

PCT

WELTORGANISATION FÜR GEISTIGES EIGENTUM
Internationales Büro



INTERNATIONALE ANMELDUNG VERÖFFENTLICHT NACH DEM VERTRAG ÜBER DIE
INTERNATIONALE ZUSAMMENARBEIT AUF DEM GEBIET DES PATENTWESENS (PCT)

(51) Internationale Patentklassifikation ⁶ : C12N 15/12, 15/85, C07K 14/47, C12Q 1/68, C07K 16/18, G01N 33/50, A61K 48/00	A1	(11) Internationale Veröffentlichungsnummer: WO 98/56907 (43) Internationales Veröffentlichungsdatum: 17. Dezember 1998 (17.12.98)
(21) Internationales Aktenzeichen: PCT/EP98/03584 (22) Internationales Anmeldedatum: 15. Juni 1998 (15.06.98) (30) Prioritätsdaten: 197 25 186.2 13. Juni 1997 (13.06.97) DE (71) Anmelder (für alle Bestimmungsstaaten ausser US): MEDIGENE AKTIENGESELLSCHAFT [DE/DE]; Lochhamer Strasse 11, D-82152 Martinsried (DE). (72) Erfinder; und (75) Erfinder/Anmelder (nur für US): HOFMANN, Marion, Elke [DE/DE]; Albrecht-Dürer-Strasse 16, D-82152 Krailling (DE). DOMDEY, Horst [DE/DE]; Fasanenweg 6, D-82061 Neuried (DE). HENKEL, Thomas [DE/DE]; Bertelestrasse 53, D-81479 München (DE). (74) Anwälte: BÖSL, Raphael usw.; Galileiplatz 1, D-81679 München (DE).		(81) Bestimmungsstaaten: AU, CA, JP, US, europäisches Patent (AT, BE, CH, CY, DE, DK, ES, FI, FR, GB, GR, IE, IT, LU, MC, NL, PT, SE). Veröffentlicht <i>Mit internationalem Recherchenbericht. Vor Ablauf der für Änderungen der Ansprüche zugelassenen Frist; Veröffentlichung wird wiederholt falls Änderungen eintreffen.</i>
(54) Title: <u>HEART AND SKELETON MUSCLE SPECIFIC NUCLEIC ACID, THE PRODUCTION AND USE THEREOF</u> (54) Bezeichnung: HERZ- UND SKELETTMUSKEL-SPEZIFISCHE NUKLEINSÄURE, IHRE HERSTELLUNG UND VERWENDUNG (57) Abstract <p>The invention relates to a nucleic acid which is specific to the heart and skeleton muscle, to the production and use thereof as a diagnostic agent, a medicament and as a test for identifying functional interactors.</p> (57) Zusammenfassung <p>Die Erfindung betrifft eine Herz- und Skelettmuskel-spezifische Nukleinsäure, ihre Herstellung und Verwendung als Diagnostikum, Arzneimittel und Test zur Identifizierung funktioneller Interaktoren.</p>		

LEDIGLICH ZUR INFORMATION

Codes zur Identifizierung von PCT-Vertragsstaaten auf den Kopfbögen der Schriften, die internationale Anmeldungen gemäss dem PCT veröffentlichen.

AL	Albanien	ES	Spanien	LS	Lesotho	SI	Slowenien
AM	Armenien	FI	Finnland	LT	Litauen	SK	Slowakei
AT	Österreich	FR	Frankreich	LU	Luxemburg	SN	Senegal
AU	Australien	GA	Gabun	LV	Lettland	SZ	Swasiland
AZ	Aserbaidsschan	GB	Vereinigtes Königreich	MC	Monaco	TD	Tschad
BA	Bosnien-Herzegowina	GE	Georgien	MD	Republik Moldau	TG	Togo
BB	Barbados	GH	Ghana	MG	Madagaskar	TJ	Tadschikistan
BE	Belgien	GN	Guinea	MK	Die ehemalige jugoslawische Republik Mazedonien	TM	Turkmenistan
BF	Burkina Faso	GR	Griechenland	ML	Mali	TR	Türkei
BG	Bulgarien	HU	Ungarn	MN	Mongolei	TT	Trinidad und Tobago
BJ	Benin	IE	Irland	MR	Mauretanien	UA	Ukraine
BR	Brasilien	IL	Israel	MW	Malawi	UG	Uganda
BY	Belarus	IS	Island	MX	Mexiko	US	Vereinigte Staaten von Amerika
CA	Kanada	IT	Italien	NE	Niger	UZ	Usbekistan
CF	Zentralafrikanische Republik	JP	Japan	NL	Niederlande	VN	Vietnam
CG	Kongo	KE	Kenia	NO	Norwegen	YU	Jugoslawien
CH	Schweiz	KG	Kirgisistan	NZ	Neuseeland	ZW	Zimbabwe
CI	Côte d'Ivoire	KP	Demokratische Volksrepublik Korea	PL	Polen		
CM	Kamerun	KR	Republik Korea	PT	Portugal		
CN	China	KZ	Kasachstan	RO	Rumänien		
CU	Kuba	LC	St. Lucia	RU	Russische Föderation		
CZ	Tschechische Republik	LI	Liechtenstein	SD	Sudan		
DE	Deutschland	LK	Sri Lanka	SE	Schweden		
DK	Dänemark	LR	Liberia	SG	Singapur		
EE	Estland						

5 **Herz- und Skelettmuskel-spezifische Nukleinsäure,**
 ihre Herstellung und Verwendung

Die Erfindung betrifft eine im menschlichen Herz- und Skelettmuskel ex-
primierte Nukleinsäure, ihre Herstellung und Verwendung als Diagnostikum,
10 Arzneimittel und Test zur Identifizierung funktioneller Interaktoren.

Das Herz ist ein muskuläres Hohlorgan mit der Aufgabe, durch wechselnde
Kontraktion (Systole) und Erschlaffung (Diastole) von Vorhöfen und Kam-
mern den Blutstrom in den Gefäßen in Bewegung zu halten.

15 Der Herzmuskel, das Myokard, setzt sich aus spezialisierten quergestreiften
Muskelzellen zusammen, zwischen denen Bindegewebe liegt. Jede Zelle
besitzt einen zentralen Kern, wird von der Plasmamembran, dem Sarko-
lemm, begrenzt und enthält zahlreiche kontraktile Myofibrillen, die unregel-
20 mäßig durch Sarkoplasma getrennt sind. Die kontraktile Substanz des Her-
zens bilden lange parallele Myofibrillen. Jede Myofibrille unterteilt sich in
mehrere gleiche strukturelle und funktionelle Einheiten, die Sarkomere. Die
Sarkomere wiederum setzen sich aus den dünnen Filamenten, die hauptsäch-
lich aus Aktin, Tropomyosin und Troponin bestehen und den dicken Fila-
25 menten zusammen, die hauptsächlich aus Myosin bestehen.

Der molekulare Mechanismus der Muskelkontraktion beruht auf einer zykli-
schen Anheftung und Ablösung der globulären Myosinköpfe von den F-
Aktinfilamenten. Bei elektrischer Stimulation des Herzmuskels wird Ca^{2+} aus
30 dem sarkoplasmatischen Retikulum freigesetzt, welches durch eine allosteri-
sche Reaktion den Troponin-Komplex und Tropomyosin beeinflusst und so

den Weg frei macht für einen Kontakt des Aktinfilamentes mit dem Myosinkopf. Die Anheftung bewirkt eine Konformationsänderung des Myosins, welches so das Aktinfilament an sich entlang zieht. Um diese Konformationsänderung rückgängig zu machen und an den Anfang eines Kontraktionszyklus zurückzukehren, wird ATP benötigt.

Die Aktivität des Herzmuskels kann durch nervöse und hormonelle Regulationsmaßnahmen kurzfristig an den jeweiligen Perfusionsbedarf, d. h. Durchblutungsbedarf, des Körpers angepaßt werden. So können sowohl die Kontraktionskraft als auch die Kontraktionsgeschwindigkeit gesteigert werden. Bei langfristiger Überbeanspruchung kommt es zu physiologischen Umbauvorgängen im Herzmuskel, die hauptsächlich durch eine Vermehrung der Myofibrillen charakterisiert sind (Myozytenhypertrophie).

Bei Schädigungen des Herzmuskels führen oft die ursprünglich physiologischen Anpassungsmechanismen langfristig zu pathophysiologischen Zuständen, die in chronische Herzinsuffizienz, d. h. Herzschwäche, münden und meistens mit akutem Herzversagen enden. Bei schwerer chronischer Insuffizienz kann das Herz nicht mehr adäquat auf veränderte Leistungsanforderungen reagieren, selbst geringe körperliche Verrichtungen führen zu Erschöpfung und Atemnot.

Schädigungen des Herzmuskels resultieren aus Ischämie, d. h. Blutleere, verursacht durch Koronarerkrankungen, bakteriellen oder viralen Infektionen, Toxinen, metabolischen Abnormalitäten, Autoimmunerkrankungen oder genetischen Defekten. Therapeutische Maßnahmen richten sich zur Zeit auf eine Stärkung der Kontraktionskraft und eine Kontrolle der kompensatorischen neuronalen und hormonellen Kompensationsmechanismen. Trotz dieser Behandlung ist die Sterblichkeit dieser Erkrankung nach wie vor hoch (35-50% innerhalb der ersten 5 Jahre nach Diagnose). Herzinsuffizienz ist die Haupt-

todesursache weltweit. Die einzige Kausaltherapie stellt die Herztransplantation dar.

Die molekularen Veränderungen bei chronischer Herzinsuffizienz sind nur ungenügend bekannt. Insbesondere die genetischen Veränderungen, die der Herzinsuffizienz zugrundeliegen, sind weitgehend unbekannt. Auch die Frage, warum sekundäre Schädigungen durch Toxine oder Viren bei manchen Menschen zur Herzinsuffizienz führen, jedoch bei anderen nicht, bleibt unbeantwortet.

10

Der vorliegenden Erfindung liegt somit die Aufgabe zugrunde, Gene zu identifizieren und zu isolieren, die für genetisch bedingte Herzerkrankungen zumindest mitverantwortlich, wenn nicht sogar ursächlich sind.

Es wurde nun überraschenderweise in einer cDNA-Bank des menschlichen Herzgewebes ein Gen gefunden, das im insuffizienten Herzgewebe stärker exprimiert wird als im gesunden Herzgewebe und somit in einem kausalen Zusammenhang mit einer genetisch bedingten Herzinsuffizienz steht. Zu diesem Gen gibt es bereits ein, wenn auch fehlerhaftes, sogenanntes EST (expressed sequence tag), dem jedoch keinerlei Funktion zugeordnet werden kann (Tanaka, T. et al. (1996) Genomics, 35, 231-235; EMBL AC:CO4498; Klon 3NHC3467).

Ein Gegenstand der Erfindung ist daher eine Nukleinsäure kodierend für ein Polypeptid mit einer Aminosäuresequenz gemäß Fig. 4 oder eine funktionelle Variante davon, und Teile davon mit mindestens 8 Nukleotiden, vorzugsweise mindestens 10 Nukleotiden, insbesondere mindestens 15 Nukleotiden, vor allem mindestens 20 Nukleotiden, ausgenommen eine Nukleinsäure mit der Sequenz:

30

1 GCCAACACGC ANTCCGACGA CAGTGCAGCC ATGGTCATTG CAGAGATGCN TCAAAGTCAA
61 TGAGCACATC ACCAACGTAA ACGTCGAGTC CAACTTCATA ACGGGAAAGG GGATCCTGGC
121 CATCATGAGA GCTCTCCAGC ACAACACGGT GCTCACGGAG CTGCGTTTCC ATAACCAGAG
181 GCACATCATG GGCAGCCAGG TGGAAATGGA GATTGTCAAG CTNCTGAAGG AGAACACGAC
5 241 GCTNCTGAGG CTGGGNTACC ATTTTNAACT CCCAGGACC
worin N gleich A, T, G oder C bedeutet.

Die erfindungsgemäße Nukleinsäure wurde aus einer cDNA-Bank des menschlichen Herzgewebes isoliert und sequenziert. Hierzu wurde zuerst aus
10 einer gesunden und insuffizienten Herzgewebe-Probe Gesamt-RNA nach Standardmethoden isoliert und mit Hilfe eines 3'-Anker-Primergemisches, z. B. eines 5'-T₁₂ACN-3' Primers, bei dem N ein beliebiges Deoxyribonukleotid bedeutet, und reverser Transkriptase in c-DNA umgeschrieben. Die cDNA wurde anschließend in Anlehnung an die sogenannte Differential
15 Display Methode nach Liang und Pardee (Liang, P. & Pardee, A. (1992) *Science* 257, 967-970) unter speziellen PCR-Bedingungen mit Hilfe eines 3'-Primers, z. B. eines T₁₂ACN-Primers, und eines willkürlich ausgewählten 5'-Dekamer-Primer, z. B. eines 5'-CCTTCTACCC-3'-Dekamer-Primers, amplifiziert. Hierbei konnte ein 321 Basenpaar (bp)-langes DNA-Fragment
20 amplifiziert werden, das überraschenderweise nicht in der gesunden Herzprobe, jedoch deutlich in der insuffizienten Herzprobe vorhanden ist. Dies war deshalb so überraschend, da die gängigen Methoden wie Differential Display Methode oder auch subtraktive cDNA-Genbanken mit dem Problem der Redundanz, der Unterrepräsentation und der falsch positiven Klone
25 behaftet sind. Insbesondere die Genprodukte schwach exprimierter Gene können nur unter speziellen Bedingungen identifiziert werden. Daher ist es auch nicht verwunderlich, daß die Trefferquote im allgemeinen sehr gering (10-20%) ist und beispielsweise bei der Differentiellen Display Methode auch von den gewählten PCR-Bedingungen, der Primer-Länge oder beispielsweise
30 bei der Herstellung subtraktiver Banken von der Hybridisierungstemperatur

abhängt. Anschließend wurde das gesamte Gen aus einer cDNA-Genbank mit Hilfe des gefundenen DNA-Fragmentes isoliert und sequenziert.

In jedem Fall ist es notwendig, durch weitere Methoden aufzuklären, ob die
5 gefundene cDNA einem aktiven und/oder gewebespezifischen Gen zugeordnet werden kann. Daher wurden mRNAs aus verschiedenen menschlichen Geweben mit dem gefundenen DNA-Fragment in einem sogenannten Northern-Blot hybridisiert und die Menge an gebundener m-RNA beispielsweise über die radioaktive Markierung des DNA-Fragments bestimmt. Dieses Experiment
10 führte zu einem Nachweis der korrespondierenden RNA vor allem in quergestreifter Muskulatur, also Herzmuskel- und Skelettmuskelgewebe sowie sehr schwach in Prostatagewebe. In einem weiteren Vergleichsexperiment zwischen gesundem und insuffizientem Herzgewebe wurde eine erhöhte Expression, beispielsweise eine um ca. 35% erhöhte Expression der RNAs in insuffizien-
15 tem Gewebe im Vergleich zum gesunden Gewebe nachgewiesen. Insbesondere konnte nachgewiesen werden, daß eine kleinere RNA-Spezies bevorzugt in insuffizientem Gewebe im Vergleich zum gesunden Gewebe eine erhöhte Expression aufweist. Die erhöhte Expression der kleineren RNA-Spezies ist beispielsweise im Northern-Blot in Form einer Doppelbande leicht zu erken-
20 nen (siehe Fig. 5b).

Ein Vergleich der abgeleiteten Polypeptidsequenz mit einer Proteindatenbank ergab zudem eine gewisse Verwandtschaft (Homologie) mit dem Protein Tropomodulin (siehe Fig. 4). Tropomodulin ist als ein Polypeptid bekannt,
25 das in Hühnchen-Kardiomyozyten Einfluß auf die Ausbildung der Myofibrillen und die Kontraktionsfähigkeit der Zellen hat (Gregorio et al. (1995) *Nature* 377, 83-86). Dieses Protein bindet zum einen an Tropomyosin und zum anderen an die Actin-Filamente, wird aber selbst nicht in seiner Aktivität reguliert. Das abgeleitete erfindungsgemäße Polypeptid weist ebenso
30 einige Strukturmerkmale des Tropomodulins auf, wie z. B. eine Tropomyo-

sin-Bindedomäne. Im Gegensatz zu Tropomodulin besitzt das erfindungsgemäße Polypeptid zusätzliche Strukturmerkmale, die auf eine Regulation der Aktivität des Polypeptids durch sogenannte Tyrosinkinasen hinweisen (siehe Fig. 4).

5

Unter dem Begriff "funktionelle Variante" im Sinne der vorliegenden Erfindung versteht man daher Polypeptide, die funktionell mit dem erfindungsgemäßen Polypeptid verwandt sind, d. h. ebenso als ein regulierbarer Modulator der Kontraktionsfähigkeit von Herzmuskelzellen bezeichnet werden können, in quergestreifter Muskulatur, vorzugsweise in Herzmuskel-, Skelettmuskel- und/oder Prostatagewebe, vor allem in Herzmuskel- und/oder Skelettmuskel und insbesondere in Herzmuskelzellen exprimiert werden, Strukturmerkmale des Tropomodulins aufweisen, wie z. B. eine oder mehrere Tropomyosin-Bindedomänen, und/oder deren Aktivität durch Tyrosinkinasen reguliert werden können. Beispiele funktioneller Varianten sind die entsprechenden Polypeptide, die aus anderen Organismen als dem Menschen, vorzugsweise aus nicht-menschlichen Säugetieren, wie z. B. Affen, stammen.

15

Im weiteren Sinne versteht man darunter auch Polypeptide, die eine Sequenzhomologie, insbesondere eine Sequenzidentität, von ca. 70%, vorzugsweise ca. 80%, insbesondere ca. 90%, vor allem ca. 95% zu dem Polypeptid mit der Aminosäuresequenz gemäß Fig. 4 haben. Darunter zählen beispielsweise Polypeptide, die von einer Nukleinsäure kodiert werden, die aus nicht-herzspezifischem Gewebe, z. B. Skelettmuskelgewebe, isoliert wird, jedoch nach Expression in einer herzspezifischen Zelle die bezeichnete Funktion(en) besitzt. Ferner zählen hierzu auch Deletionen des Polypeptids im Bereich von ca. 1-60, vorzugsweise von ca. 1-30, insbesondere von ca. 1-15, vor allem von ca. 1-5 Aminosäuren. Beispielsweise kann die erste Aminosäure Methionin fehlen, ohne daß die Funktion des Polypeptids wesentlich verändert wird. Daneben zählen hierzu auch Fusionsproteine, die die

20

25

30

oben beschriebenen erfindungsgemäßen Polypeptide enthalten, wobei die Fusionsproteine selbst bereits die Funktion eines regulierbaren Modulators der Kontraktionsfähigkeit von Herzmuskelzellen haben oder erst nach Abspaltung des Fusionsanteils die spezifische Funktion bekommen können. Vor
5 allem zählen hierzu Fusionsproteine mit einem Anteil von insbesondere nicht-herzspezifischen Sequenzen von ca. 1-200, vorzugsweise ca. 1-150, insbesondere ca. 1-100, vor allem ca. 1-50 Aminosäuren. Beispiele von nicht-herzspezifischen Peptidsequenzen sind prokaryotische Peptidsequenzen, die z. B. aus der Galactosidase von *E. coli* abgeleitet sein können.

10

Die erfindungsgemäße Nukleinsäure ist im allgemeinen eine DNA oder RNA, vorzugsweise eine DNA. Für die Expression des betreffenden Gens ist im allgemeinen eine doppelsträngige DNA bevorzugt und für die Verwendung als Sonde eine einzelsträngige DNA. Besonders bevorzugt ist eine
15 doppel- oder einzelsträngige DNA mit einer Nukleinsäuresequenz gemäß Fig. 1, 2 oder 3 und die oben bereits näher beschriebenen Teile davon, wobei der für das Polypeptid kodierende DNA-Bereich besonders bevorzugt ist. Dieser Bereich beginnt mit den Nukleinsäuren "ATG" kodierend für Methionin an der Position 89 bis "TAG" kodierend für "Amber" (Stop) an der
20 Position 1747.

Die erfindungsgemäße Nukleinsäure kann beispielsweise chemisch anhand der in Fig. 1-3 offenbarten Sequenzen oder anhand der in Fig. 4 offenbarten Polypeptidsequenz unter Heranziehen des genetischen Codes z. B. nach der
25 Phosphotriester-Methode synthetisiert werden (siehe z. B. Uhlmann, E. & Peyman, A. (1990) *Chemical Reviews*, 90, 543-584, No. 4). Eine weitere Möglichkeit, die erfindungsgemäße Nukleinsäure in die Hand zu bekommen, ist die Isolierung aus einer geeigneten Genbank, beispielsweise aus einer herzspezifischen Genbank, anhand einer geeigneten Sonde (siehe z. B. J.
30 Sambrook et al., 1989, *Molecular Cloning. A Laboratory Manual* 2nd edn.,

Cold Spring Harbor Laboratory, Cold Spring Harbor, NY). Als Sonde eignen sich beispielsweise einzelsträngige DNA-Fragmente mit einer Länge von ca. 100-1000 Nukleotiden, vorzugsweise mit einer Länge von ca. 200-500 Nukleotiden, insbesondere mit einer Länge von ca. 300-400 Nukleotiden deren Sequenz aus den Nukleinsäuresequenzen gemäß Fig. 1-3 abgeleitet werden kann. Ein Beispiel einer Sonde ist das 321 bp große DNA-Fragment gemäß Beispiel 1, das dem unterstrichenen Bereich in Fig. 1 entspricht, mit dem bereits erfolgreich die erfindungsgemäße Nukleinsäure aus humanem Herzgewebe isoliert wurde (siehe Beispiel 2).

10

Üblicherweise ist die erfindungsgemäße Nukleinsäure in einem Vektor, vorzugsweise in einem Expressionsvektor oder gentherapeutisch wirksamen Vektor enthalten. Vorzugsweise enthält der gentherapeutisch wirksame Vektor herzspezifische regulatorische Sequenzen, wie z. B. den Troponin C (cTNC) Promotor (siehe z. B. Parmacek, M. S. et al. (1990) *J. Biol. Chem.* 265 (26) 15970-15976 und Parmacek, M. S. et al. (1992) *Mol. Cell Biol.* 12(5), 1967-1976), der funktionell mit der erfindungsgemäßen Nukleinsäure verbunden ist.

Die Expressionsvektoren können prokaryotische oder eukaryotische Expressionsvektoren sein. Beispiele für prokaryotische Expressionsvektoren sind für die Expression in *E. coli* z. B. die Vektoren pGEM oder pUC-Derivate und für eukaryotische Expressionsvektoren für die Expression in *Saccharomyces cerevisiae* z. B. die Vektoren p426Met25 oder p426GAL1 (Mumberg et al. (1994) *Nucl. Acids Res.*, 22, 5767-5768), für die Expression in Insektenzellen z. B. Baculovirus-Vektoren wie in EP-B1-0 127 839 oder EP-B1-0 549 721 offenbart, und für die Expression in Säugerzellen z. B. die Vektoren Rc/CMV und Rc/RSV oder SV40-Vektoren, welche alle allgemein erhältlich sind.

30

Im allgemeinen enthalten die Expressionsvektoren auch für die jeweilige Wirtszelle geeignete Promotoren, wie z. B. den trp-Promotor für die Expression in *E. coli* (siehe z. B. EP-B1-0 154 133), den ADH2-Promotor für die Expression in Hefen (Russel et al. (1983), *J. Biol. Chem.* 258, 2674-2682), den Baculovirus-Polyhedrin-Promotor für die Expression in Insektenzellen (siehe z. B. EP-B1-0 127 839) oder den frühen SV40 Promotor oder LTR-Promotoren z. B. von MMTV (mouse mammary tumour virus; Lee et al. (1981) *Nature* 214, 228-232).

Beispiele von gentherapeutisch wirksamen Vektoren sind Virusvektoren, vorzugsweise Adenovirusvektoren, insbesondere replikationsdefiziente Adenovirusvektoren, oder Adenoassoziierte Virusvektoren, z. B. ein Adenoassoziiierter Virusvektor, der ausschließlich aus zwei invertierten terminalen Wiederholungssequenzen (ITR) besteht.

Ein Adenovirusvektor und insbesondere ein replikationsdefizienter Adenovirusvektor sind aus den folgenden Gründen besonders bevorzugt.

Das humane Adenovirus gehört zu der Klasse der doppelsträngigen DNA-Viren mit einem Genom von ca. 36 Kilobasenpaaren (Kb). Die virale DNA kodiert für etwa 2700 verschiedene Genprodukte, wobei man frühe ("*early genes*") und späte ("*late genes*") unterscheidet. Die "*early genes*" werden in vier transkriptionellen Einheiten, E1 bis E4, unterteilt. Die späten Genprodukte kodieren für die Kapsidproteine. Immunologisch können mindestens 42 verschiedene Adenoviren und die Untergruppen A bis F unterschieden werden, die alle für die vorliegende Erfindung geeignet sind. Die Transkription der viralen Gene setzt die Expression der E1-Region voraus, welche für einen Transaktivator der adenoviralen Genexpression kodiert. Diese Abhängigkeit der Expression aller nachfolgenden viralen Gene von dem E1-Transaktivator kann für die Konstruktion der nicht replikationsfähigen adeno-

viralen Vektoren genutzt werden (siehe z.B. McGrory, W.J. et al. (1988) *Virol.* 163, 614 - 617 und Gluzman, Y. et al. (1982) in "*Eukaryotic Viral Vectors*" (Gluzman, Y. ed.) 187 . 192, Cold Spring Harbor Press, Cold Spring Harbor, New York). In adenoviralen Vektoren, insbesondere vom
5 Typ 5 (Sequenz siehe Chroboczek, J. et al. (1992) *Virol.* 186, 280 - 285) und vor allem von der Untergruppe C, wird im allgemeinen die E1-Genregion durch ein Fremdgen mit eigenem Promotor bzw. durch das erfindungsgemäße Nukleinsäurekonstrukt ersetzt. Durch den Austausch der E1-Genregion, welche für die Expression der nachgeschalteten adenoviralen Gene
10 Voraussetzung ist, entsteht ein nicht replikationsfähiges Adenovirus. Diese Viren können sich dann nur in einer Zelllinie vermehren, welche die fehlenden E1-Gene ersetzt.

Replikationsdefiziente Adenoviren werden daher im allgemeinen durch homologe Rekombination in der sogenannten 293-Zelllinie (humane embryonale
15 Nierenzelllinie), die eine Kopie der E1-Region stabil im Genom integriert hat, gebildet. Hierzu werden unter Kontrolle eines eigenen Promotors, z.B. des bereits oben genannten Troponin C Promotors, die erfindungsgemäße Nukleinsäure in rekombinante adenovirale Plasmide kloniert. Anschließend
20 erfolgt die homologe Rekombination mit einem E1-defizienten adenoviralen Genom, wie z.B. dl327 oder del1324 (Adenovirus 5), in der Helferzelllinie 293. Bei erfolgreicher Rekombination werden virale Plaques geerntet. Die so erzeugten replikationsdefizienten Viren werden in hohen Titern (beispielsweise 10^9 bis 10^{11} "plaque forming units" oder plaquebildenden Einheiten) zur
25 Infektion der Zellkultur oder für die somatische Gentherapie eingesetzt.

Im allgemeinen ist die genaue Insertionsstelle der erfindungsgemäßen Nukleinsäure in das adenovirale Genom nicht kritisch. Es ist z.B. auch möglich, die erfindungsgemäße Nukleinsäure an die Stelle des deletierten E3-
30 Gens zu klonieren (Karlsson, S. et al. *EMBO J.* 5, 1986, 2377 - 2385).

Vorzugsweise wird jedoch die E1-Region oder Teile davon, z.B. die E1A- oder E1B-Region (siehe z.B. WO 95/00655) durch die erfindungsgemäße Nukleinsäure ersetzt, vor allem, wenn auch die E3-Region deletiert ist.

- 5 Die vorliegende Erfindung ist jedoch nicht auf das adenovirale Vektorsystem beschränkt, sondern auch Adeno-assoziierte Virusvektoren eignen sich in Kombination mit der erfindungsgemäßen Nukleinsäure aus folgenden Gründen in besonderer Weise.
- 10 Das AAV-Virus gehört zur Familie der Parvoviren. Diese zeichnen sich durch ein ikosaedrisches, unbehülltes Kapsid mit einem Durchmesser von 18 bis 30 nm aus, welches eine lineare, einzelsträngige DNA von ca. 5 kb enthält. Für eine effiziente Vermehrung von AAV ist eine Koinfektion der Wirtszelle mit Helferviren erforderlich. Als Helfer eignen sich beispielsweise
- 15 Adenoviren (Ad5 oder Ad2), Herpesviren und Vacciniaviren (Muzyczka, N. (1992) *Curr. Top. Microbiol. Immunol.* 158, 97 - 129). In Abwesenheit eines Helfervirus geht AAV in einen Latenzzustand über, wobei das Virusgenom in der Lage ist, stabil in das Wirtszellgenom zu integrieren. Die Eigenschaft von AAV, in das Wirtsgenom zu integrieren, macht es als
- 20 Transduktionsvektor für Säugetierzellen besonders interessant. Für die Vektorfunktionen genügen im allgemeinen die beiden ca. 145 bp langen invertierten terminalen Wiederholungssequenzen (ITR: *inverted terminal repeats*; siehe z.B. WO 95/23867). Sie tragen die in "cis" notwendigen Signale für Replikation, Verpackung und Integration in das Wirtszellgenom. Zur Verpackung
- 25 in rekombinante Vektorpartikel wird ein Vektorplasmid, welches die Gene für nicht-strukturelle Proteine (rep-Proteine) und für strukturelle Proteine (cap-Proteine) trägt, in Adenovirus-infizierte Zellen transfiziert. Nach einigen Tagen wird ein zellfreies Lysat hergestellt, welches neben den rekombinanten AAV-Partikeln auch Adenoviren enthält. Die Adenoviren können
- 30 vorteilhafterweise durch Erhitzen auf 56°C oder durch Bandieren im

Cäsiumchlorid-Gradienten entfernt werden. Mit dieser Cotransfektionsmethode sind rAAV-Titer von 10^5 bis 10^6 IE/ml erzielbar. Die Kontamination durch Wildtypviren liegt unterhalb der Nachweisgrenze, wenn das Verpackungsplasmid und das Vektorplasmid keine überlappenden Sequenzen besitzen
5 (Samulski, R.J. (1989) *J. Virol.* 63, 3822 - 3828).

Der Transfer der erfindungsgemäßen Nukleinsäure in somatische Körperzellen kann durch AAV in ruhende, differenzierte Zellen erfolgen, was für die Gentherapie des Herzens besonders vorteilhaft ist. Durch die erwähnte
10 Integrationsfähigkeit kann auch eine lang anhaltende Genexpression *in vivo* gewährleistet werden, was wiederum besonders vorteilhaft ist. Ein weiterer Vorteil von AAV ist, daß das Virus nicht pathogen für den Menschen und relativ stabil *in vivo* ist. Die Klonierung der erfindungsgemäßen Nukleinsäure in den AAV-Vektor oder Teilen davon erfolgt nach dem Fachmann bekannten
15 Methoden, wie sie z.B. in der WO 95/23867, bei Chiorini, J.A. et al. (1995), *Human Gene Therapy* 6, 1531 - 1541 oder Kotin, R.M. (1994), *Human Gene Therapy* 5, 793 - 801 beschrieben sind.

Gentherapeutisch wirksame Vektoren lassen sich auch dadurch erhalten, daß
20 man die erfindungsgemäße Nukleinsäure mit Liposomen komplexiert, da damit eine sehr hohe Transfektionseffizienz, insbesondere von Herzmuskelzellen, erreicht werden kann (Felgner, P.L. et al. (1987), *Proc. Natl. Acad. Sci USA* 84, 7413 - 7417). Bei der Lipofektion werden kleine unilamellare Vesikel aus kationischen Lipiden durch Ultraschallbehandlung
25 der Liposomensuspension hergestellt. Die DNA wird ionisch auf der Oberfläche der Liposomen gebunden, und zwar in einem solchen Verhältnis, daß eine positive Nettoladung verbleibt und die Plasmid-DNA zu 100% von den Liposomen komplexiert wird. Neben den von Felgner et al. (1987, supra) eingesetzten Lipidmischungen DOTMA (1,2-Dioleoyloxypropyl-3-trimethylammoniumbromid) und DOPE (Dioleoylphosphatidylethanolamin) wurden
30

inzwischen zahlreiche neue Lipidformulierungen synthetisiert und auf ihre Effizienz der Transfektion verschiedener Zelllinien getestet (Behr, J.P. et al. (1989), *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 86, 6982 - 6986; Felgner, J.H. et al. (1994) *J. Biol. Chem.* 269, 2550 - 2561; Gao, X. & Huang, L. (1991),
5 *Biochim. Biophys. Acta* 1189, 195 - 203). Beispiele der neuen Lipidformulierungen sind DOTAP N-[1-(2,3-Dioleoyloxy)propyl]-N,N,N-trimethylammoniummethylsulfat oder DOGS (TRANSFECTAM; Dioc-tadecylamidoglycylspermin). Ein Beispiel für die Herstellung von DNA-Liposomenkomplexen und deren erfolgreiche Anwendung in der Herz-spezifischen Transfektion ist in der DE 44 11 402 beschrieben.
10

Für die gentherapeutische Anwendung der erfindungsgemäßen Nukleinsäure ist es auch von Vorteil, wenn der Teil der Nukleinsäure, der für das Polypeptid kodiert, ein oder mehrere nicht-kodierende Sequenzen einschließ-
15 lich Intronsequenzen, vorzugsweise zwischen Promotor und dem Startcodon des Polypeptids, und/oder eine polyA-Sequenz, insbesondere die natürlich vorkommende polyA-Sequenz oder eine SV40 Virus polyA-Sequenz, vor allem am 3'-Ende des Gens enthält, da hierdurch eine Stabilisierung der mRNA in der Herzmuskelzelle erreicht werden kann (Jackson, R. J. (1993)
20 *Cell* 74, 9-14 und Palmiter, R. D. et al. (1991) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 88, 478-482).

Ein weiterer Gegenstand der vorliegenden Erfindung ist auch das Polypeptid selbst mit einer Aminosäuresequenz gemäß Fig. 4 oder eine funktionelle
25 Variante davon, und Teile davon mit mindestens 6 Aminosäuren, vorzugsweise mit mindestens 12 Aminosäuren, insbesondere mit mindestens 15 Aminosäuren und vor allem mit mindestens 164 Aminosäuren, ausgenommen ein Polypeptid mit der Sequenz:

PTRNPTTVQPWSLQRCIKVNEHITNVNVESNFITGKGILAIMRALQ
10 20 30 40
HNTVLTFLRFHNQRHIMGSQVEMEIVKLLKENTTLRLGYHFKLPG
50 60 70 80 90

5

Das Polypeptid wird beispielsweise durch Expression der erfindungsgemäßen Nukleinsäure in einem geeigneten Expressionssystem, wie oben bereits beschrieben, nach dem Fachmann allgemein bekannten Methoden hergestellt. Als Wirtszellen eignen sich beispielsweise die *E. coli* Stämme DH5, HB101
10 oder BL21, der Hefestamm *Saccharomyces cerevisiae*, die Insektenzelllinie *Lepidopteran*, z. B. von *Spodoptera frugiperda*, oder die tierischen Zellen COS, Vero, 293 und HeLa, die alle allgemein erhältlich sind.

Die genannten Teile des Polypeptids können auch mit Hilfe der klassischen
15 Synthese (Merrifield-Technik) synthetisiert werden. Sie eignen sich insbesondere zur Gewinnung von Antiseren, mit deren Hilfe geeignete Genexpressionsbanken durchsucht werden können, um so zu weiteren funktionellen Varianten des erfindungsgemäßen Polypeptids zu gelangen.

20 Ein anderer Gegenstand der vorliegenden Erfindung bezieht sich daher auch auf Antikörper, die mit dem Polypeptid mit einer Aminosäuresequenz gemäß Fig. 4 oder eine funktionelle Variante davon, und Teile davon mit mindestens 6 Aminosäuren, vorzugsweise mit mindestens 12 Aminosäuren, insbesondere mit mindestens 15 Aminosäuren und vor allem mit mindestens
25 164 Aminosäuren spezifisch reagieren, wobei die oben genannten Teile des Polypeptids entweder selbst immunogen sind oder durch Kopplung an geeignete Träger, wie z. B. bovines Serumalbumin, immunogen gemacht bzw. in ihrer Immunogenität gesteigert werden können.

Die Antikörper sind entweder polyklonal oder monoklonal. Die Herstellung, die auch einen Gegenstand der vorliegenden Erfindung darstellt, erfolgt beispielsweise nach allgemein bekannten Methoden durch Immunisieren eines Säugetiers, beispielsweise eines Kaninchens, mit dem genannten Polypeptid
5 oder den genannten Teilen davon gegebenenfalls in Anwesenheit von z. B. Freund's Adjuvant und/oder Aluminiumhydroxidgelen (siehe z. B. Diamond, B. A. et al. (1981) *The New England Journal of Medicine*, 1344-1349). Die im Tier aufgrund einer immunologischen Reaktion entstandenen polyklonalen Antikörper lassen sich anschließend nach allgemein bekannten Methoden
10 leicht aus dem Blut isolieren und z. B. über Säulenchromatographie reinigen. So konnte beispielsweise gegen ein Polypeptid mit den erfindungsgemäßen Aminosäuren 1-90 gemäß Fig. 4, das als Fusionsprotein in Bakterien exprimiert und über eine Affinitätschromatographie gereinigt wurde, ein polyklonales Antiserum im Kaninchen erzeugt werden. Die erfindungsgemäßen
15 Antikörper erkannten in Extrakten aus humanem Herzgewebe spezifisch das entsprechende Protein von ca. 80 kD.

Monoklonale Antikörper können beispielsweise nach der bekannten Methode von Winter & Milstein (Winter, G. & Milstein, C. (1991) *Nature*, 349,
20 293-299) hergestellt werden.

Ein Gegenstand der vorliegenden Erfindung ist auch ein Arzneimittel, das eine Nukleinsäure kodierend für ein Polypeptid mit einer Aminosäuresequenz gemäß Fig. 4 oder eine funktionelle Variante davon und den oben genannten
25 Teilen davon mit mindestens 8 Nukleotiden oder ein Polypeptid mit einer Aminosäuresequenz gemäß Fig. 4 oder eine funktionelle Variante davon und den oben genannten Teilen davon mit mindestens 6 Aminosäuren und gegebenenfalls geeignete Zusatz- oder Hilfsstoffe enthält und ein Verfahren zur Herstellung eines Arzneimittels zur Behandlung von Herzerkrankungen,
30 insbesondere von Herzinsuffizienz, bei dem eine genannte Nukleinsäure oder

ein genanntes Polypeptid mit einem pharmazeutisch annehmbaren Träger formuliert wird.

Ein Beispiel für die Verwendung von Nukleinsäurefragmenten als Therapeutikum ist die Verwendung von DNA-Fragmenten in Form von Antisense-Oligonukleotiden (Uhlmann, E. & Peyman, A. (1990) Chemical Reviews, 90, 543-584, Nr. 4).

Für die gentherapeutische Anwendung beim Menschen ist vor allem ein Arzneimittel geeignet, das die genannte Nukleinsäure in nackter Form oder in Form eines der oben beschriebenen gentherapeutisch wirksamen Vektoren oder in mit Liposomen komplexierter Form enthält. Der pharmazeutische Träger ist beispielsweise eine physiologische Pufferlösung, vorzugsweise mit einem pH von ca. 6,0-8,0, vorzugsweise von ca. 6,8-7,8, insbesondere von ca. 7,4 und/oder einer Osmolarität von ca. 200-400 milliosmol/Liter, vorzugsweise von ca. 290-310 milliosmol/Liter. Zusätzlich kann der pharmazeutische Träger geeignete Stabilisatoren, wie z. B. Nukleaseinhibitoren, vorzugsweise Komplexbildner wie EDTA und/oder andere dem Fachmann bekannte Hilfsstoffe enthalten.

20

Die Verabreichung der genannten Nukleinsäure gegebenenfalls in Form der oben näher beschriebenen Virusvektoren oder als Liposomenkomplexe erfolgt üblicherweise intravenös, z. B. mit Hilfe eines Katheters. Vorteilhaft ist beispielsweise die direkte Infusion der erfindungsgemäßen Nukleinsäure in die Koronararterien des Patienten (sog. "Percutaneous Coronary Gene Transfer", PCGT), insbesondere in Form von rekombinanten Adenovirusvektoren oder Adenoassoziierten Virusvektoren. Besonders bevorzugt ist die Verabreichung mit Hilfe eines Ballonkatheters, da hierdurch die Transfektion nicht nur auf das Herz, sondern auch innerhalb des Herzens auf die Injektionsstelle

25

begrenzt werden kann (siehe z. B. Feldman, L. J. et al. (1994) *JACC* 235A, 906-934).

Es ist auch möglich, das Polypeptid selbst intravenös oder mit Hilfe eines
5 Katheters oder Ballonkatheters gegebenenfalls mit geeigneten Zusatz- oder
Hilfsstoffen, wie z.B. physiologische Kochsalzlösung, Stabilisatoren, Protei-
naseinhibitoren etc., zu verabreichen, um die Funktion des Herzens sofort
und unmittelbar zu beeinflussen.

10 Ein weiterer Gegenstand der vorliegenden Erfindung ist auch ein Diagnosti-
kum enthaltend eine Nukleinsäure, ein Polypeptid oder Antikörper gemäß der
vorliegenden Erfindung und gegebenenfalls geeignete Zusatz- oder Hilfsstoffe
und ein Verfahren zur Herstellung eines Diagnostikums zur Diagnose von
Herzerkrankungen, insbesondere Herzinsuffizienz, bei dem eine Nukleinsäure,
15 ein Polypeptid oder Antikörper gemäß der vorliegenden Erfindung mit
geeigneten Zusatz- oder Hilfsstoffe versetzt wird.

Beispielsweise können gemäß der vorliegenden Erfindung anhand der genann-
ten Nukleinsäure ein Diagnostikum auf der Basis der Polymerasekettenreak-
20 tion (PCR-Diagnostik, z. B. gemäß EP-0 200 362) oder eines Northern-
Blots, wie in Beispiel 3 unter Verwendung des erfindungsgemäßen 321 bp
DNA-Fragmentes als Sonde näher dargestellt, hergestellt werden. Diese Tests
beruhen auf der spezifischen Hybridisierung der genannten Nukleinsäuren mit
dem komplementären Gegenstrang üblicherweise der entsprechenden mRNA.
25 Die Nukleinsäure kann hierbei auch modifiziert sein, wie z. B. in EP 0 063
879 beschrieben. Vorzugsweise wird ein DNA-Fragment, insbesondere das
in Beispiel 1 beschriebene DNA-Fragment mittels geeigneter Reagenzien, z.
B. radioaktiv mit α -P³²-dCTP oder nicht-radioaktiv mit Biotin, nach all-
gemein bekannten Methoden markiert und mit isolierter RNA, die vorzugs-
30 weise vorher an geeignete Membranen aus z. B. Cellulose oder Nylon

gebunden wurde, inkubiert. Zudem ist es vorteilhaft, die isolierte RNA vor der Hybridisierung und Bindung an eine Membran der Größe nach, z. B. mittels Agarose-Gelelektrophorese, aufzutrennen. Bei gleicher Menge an untersuchter RNA aus jeder Gewebeprobe kann somit die Menge an mRNA
5 bestimmt werden, die spezifisch durch die Sonde markiert wurde.

Mit Hilfe des erfindungsgemäßen Diagnostikums kann somit auch eine Gewebeprobe des Herzens in vitro auf die Expressionsstärke des korrespondierenden Gens spezifisch gemessen werden, um eine mögliche Herzinsuffizienz sicher diagnostizieren zu können (siehe Beispiel 1). Insbesondere eignet
10 sich eine cDNA mit einer Sequenz gemäß Fig. 1 für die Diagnose einer möglichen Herzinsuffizienz (siehe Beispiel 2).

Ein weiteres Diagnostikum enthält das Polypeptid gemäß der vorliegenden
15 Erfindung bzw. die oben näher beschriebenen immunogenen Teile davon. Das Polypeptid bzw. die Teile davon, die vorzugsweise an eine Festphase, z. B. aus Nitrocellulose oder Nylon, gebunden sind, können beispielsweise mit der zu untersuchenden Körperflüssigkeit, z. B. Blut, in vitro in Berührung gebracht werden, um so beispielsweise mit Autoimmunantikörper
20 reagieren zu können. Der Antikörper-Peptid-Komplex kann anschließend beispielsweise anhand markierter Antihuman-IgG- oder Antihuman-IgM-Antikörper nachgewiesen werden. Bei der Markierung handelt es sich beispielsweise um ein Enzym, wie Peroxidase, das eine Farbreaktion katalysiert. Die Anwesenheit und die Menge an anwesenden Autoimmunantikörper kann somit
25 über die Farbreaktion leicht und schnell nachgewiesen werden.

Ein anderes Diagnostikum enthält die erfindungsgemäßen Antikörper selbst. Mit Hilfe dieser Antikörper kann beispielsweise eine Gewebeprobe des Herzens leicht und schnell dahingehend untersucht werden, ob das betreffende Polypeptid in einer erhöhten Menge vorhanden ist, um dadurch einen
30

Hinweis auf eine mögliche Herzinsuffizienz zu erhalten. In diesem Fall sind die erfindungsgemäßen Antikörper beispielsweise mit einem Enzym, wie oben bereits beschrieben, markiert. Der spezifische Antikörper-Peptid-Komplex kann dadurch leicht und ebenso schnell über eine enzymatische Farbreaktion nachgewiesen werden.

Ein anderer Gegenstand der vorliegenden Erfindung betrifft einen Test zur Identifizierung funktioneller Interaktoren enthaltend eine erfindungsgemäße Nukleinsäure kodierend für ein Polypeptid mit einer Aminosäuresequenz gemäß Fig. 4 oder eine funktionelle Variante davon und den oben genannten 10 Teilen davon mit mindestens 8 Nukleotiden, ein Polypeptid mit einer Aminosäuresequenz gemäß Fig. 4 oder eine funktionelle Variante davon, und den oben genannten Teilen davon mit mindestens 6 Aminosäuren oder die erfindungsgemäßen Antikörper und gegebenenfalls geeignete Zusatz- oder 15 Hilfsstoffe.

Ein geeigneter Test zur Identifizierung funktioneller Interaktoren ist z. B. das sogenannte "*Two-Hybrid-System*" (Fields, S. & Sternglanz, R. (1994) *Trends in Genetics*, 10, 286-292).

20

Bei diesem Test wird eine Zelle, beispielsweise eine Hefezelle, mit einem oder mehreren Expressionsvektoren transformiert oder transfiziert, die ein Fusionsprotein exprimieren, das ein Polypeptid gemäß der vorliegenden Erfindung und eine DNA-Bindedomäne eines bekannten Proteins, beispielsweise von Gal4 oder LexA aus *E. coli*, enthält, und/oder ein Fusionsprotein 25 exprimiert, das ein unbekanntes Polypeptid und eine Transkriptions-Aktivierungsdomäne, beispielsweise von Gal4, Herpes Virus VP16 oder B42, enthält. Zudem enthält die Zelle ein Reportergen, beispielsweise das lacZ-Gen aus *E. coli*, "green fluorescence protein" oder die Aminosäure-Biosynthese gene der Hefe His3 oder Leu2, das durch regulatorische Sequenzen, 30

wie z. B. den *lexA*-Promotor/Operator oder durch eine sogenannte "upstream activation sequence" (UAS) der Hefe, kontrolliert wird. Das unbekannte Polypeptid wird beispielsweise durch ein DNA-Fragment kodiert, das aus einer Genbank, beispielsweise aus einer Herzwewebe-spezifischen Genbank des Menschen, stammt. Üblicherweise wird gleich eine cDNA-Genbank mit Hilfe der beschriebenen Expressionsvektoren in Hefe hergestellt, so daß der Test unmittelbar danach durchgeführt werden kann.

Beispielsweise wird in einen Hefe-Expressionsvektor eine Nukleinsäure gemäß der vorliegenden Erfindung in funktioneller Einheit an die Nukleinsäure kodierend für die *LexA*-DNA-Bindedomäne kloniert, so daß ein Fusionsprotein aus dem erfindungsgemäßen Polypeptid und der *LexA*-DNA-Bindedomäne in der transformierten Hefe exprimiert wird. In einem anderen Hefe-Expressionsvektor werden cDNA-Fragmente aus einer cDNA-Genbank in funktioneller Einheit an die Nukleinsäure kodierend für die *Gal4*-Transkriptions-Aktivierungsdomäne kloniert, so daß ein Fusionsprotein aus einem unbekannten Polypeptid und der *Gal4*-Transkriptions-Aktivierungsdomäne in der transformierten Hefe exprimiert wird. Die mit beiden Expressionsvektoren transformierte Hefe, die beispielsweise *Leu2⁻* ist, enthält zusätzlich eine Nukleinsäure, die für *Leu2* kodiert, und durch den *LexA*-Promotor/Operator kontrolliert wird. Im Falle einer funktionellen Interaktion zwischen dem erfindungsgemäßen Polypeptid und dem unbekannten Polypeptid bindet die *Gal4*-Transkriptions-Aktivierungsdomäne über die *LexA*-DNA-Bindedomäne an den *LexA*-Promotor/Operator, wodurch dieser aktiviert und das *Leu2*-Gen exprimiert wird. Dies hat zur Folge, daß die *Leu2⁻* Hefe auf Minimalmedium, das kein Leucin enthält, wachsen kann.

Bei Verwendung des *lacZ* bzw. "green fluorescence protein"-Reportergens anstelle eines Aminosäure-Biosynthesegens kann die Aktivierung der Transkription dadurch nachgewiesen werden, daß sich blaue bzw. grün-fluoreszieren-

rende Kolonien bilden. Die Blau- bzw. Fluoreszenzfärbung läßt sich auch leicht im Spektrophotometer z. B. bei 585 nm im Falle einer Blaufärbung quantifizieren.

- 5 Auf diese Weise können Expressionsgenbanken leicht und schnell auf Polypeptide durchsucht werden, die mit einem Polypeptid gemäß der vorliegenden Erfindung interagieren. Anschließend können die gefundenen neuen Polypeptide isoliert und weiter charakterisiert werden.
- 10 Eine weitere Anwendungsmöglichkeit des "*Two-Hybrid Systems*" ist die Beeinflussung der Interaktion zwischen einem Polypeptid gemäß der vorliegenden Erfindung und einem bekannten oder unbekannten Polypeptid durch weitere Substanzen, wie z. B. chemische Verbindungen. Auf diese Weise lassen sich auch leicht neue und wertvolle, chemisch synthetisierbare Wirk-
- 15 stoffe auffinden, die als Therapeutikum zur Behandlung einer Herzerkrankung eingesetzt werden können. Die vorliegende Erfindung ist daher nicht nur auf ein Verfahren zum Auffinden von Polypeptid-artigen Interaktoren beschränkt, sondern erstreckt sich auch auf ein Verfahren zum Auffinden von Substanzen, die mit dem oben beschriebenen Protein-Protein-Komplex interagieren
- 20 können. Derartige Polypeptid-artige, wie auch chemische Interaktoren werden daher im Sinne der vorliegenden Erfindung als funktionelle Interaktoren bezeichnet.

Der überraschende Vorteil der vorliegenden Erfindung ist somit, daß mit

25 Hilfe der erfindungsgemäßen Gegenstände Herzerkrankungen, insbesondere die Herzinsuffizienz, spezifisch und sicher diagnostiziert und therapiert werden können. Es ergeben sich jedoch auch weitere wertvolle therapeutische und diagnostische Möglichkeiten. Beispielsweise sind die mit den beschriebenen Testverfahren leicht aufzuspürenden funktionelle Interaktoren deshalb so

30 vorteilhaft, weil mit deren Hilfe in Form von geeigneten Arzneimitteln die

Aktivität des erfindungsgemäßen Polypeptids in seiner natürlichen Umgebung im Herzmuskel und somit auch die Kontraktionsfähigkeit der Herzmuskelzellen gezielt beeinflusst werden kann, insbesondere da die Aktivität dieses Polypeptids, wie oben bereits näher beschrieben, reguliert werden kann.

5

Die nachfolgenden Abbildungen und Beispiele sollen die Erfindung näher erläutern ohne sie zu beschränken.

10

Beschreibung der Abbildungen

Fig. 1 zeigt eine 1936 Nukleotide-lange herzspezifische DNA-Sequenz. Der Bereich, der für das entsprechende Polypeptid kodiert, ist in Fettdruck dargestellt. Das DNA-Fragment aus Beispiel 1 ist unterstrichen.

15

Fig. 2 zeigt eine 2080 Nukleotide-lange herzspezifische DNA-Sequenz, die eine Verlängerung am 5'-Ende der DNA-Sequenz aus Fig. 1 aufweist. Der Bereich, der für das entsprechende Polypeptid kodiert, ist wiederum in Fettdruck dargestellt.

20

Fig. 3 zeigt eine 2268 Nukleotide-lange herzspezifische DNA-Sequenz, die eine Verlängerung am 5'-Ende der DNA-Sequenz aus Fig. 1 bzw. Fig. 2 aufweist. Der Bereich, der für das entsprechende Polypeptid kodiert, ist ebenso in Fettdruck dargestellt.

25

Fig. 4 zeigt eine 552 Aminosäuren-lange Polypeptid-Sequenz, die von einer der DNA-Sequenzen gemäß Fig. 1-3 kodiert wird. Die zu humanem Tropomodulin homologen Bereiche sind in Fettdruck dargestellt. Die Sequenzmoti-

fe, die auf eine Regulation des Polypeptides durch Tyrosinkinase-Signaltransduktionswege hinweisen, sind unterstrichen.

Fig. 5a und 5b zeigen Northern-Blots von mRNAs, die zu den Nukleinsäuresequenzen gemäß Fig. 1-3 korrespondieren, zum Nachweis der Expression in verschiedenen menschlichen Geweben (Fig. 5a) und zum Nachweis der Expression in gesundem und insuffizientem menschlichen Herzgewebe (Fig. 5b).

10

Beispiele

1. Isolierung eines DNA-Fragments aus humanem insuffizientem Herzgewebe

Aus einer gesunden und einer insuffizienten Herzgewebe-Probe wurde zunächst durch Standardmethoden (Chomczynski & Sacchi (1987), *Anal. Biochem.*, 162 (1), 156-159) Gesamt-RNA isoliert. Die RNA wurde dann mit DNase behandelt, um DNA-Kontaminationen zu entfernen. Ein Aliquot dieser RNA (0,2 µg) wurde dann in einem 20 µl-Reaktionsmix mit 1 x RT-Puffer (Gibco Y00121), 10 mM DTT, 20 µM dNTP-Mix, 1U/µl RNAsin (Promega N2511), 1 µM 3'-Anker-Primergemisch vom Typ 5'-T₁₂ACN-3', wobei N ein beliebiges desoxy-Nukleotid sein kann und 10U/µl SuperScript RNase H⁻ reverser Transkriptase 60 min bei 37°C inkubiert und somit in cDNA umgeschrieben. Ein cDNA-Aliquot wurde anschließend einer 20 µl-PCR-Reaktion in 1x PCR-Puffer (Perkin-Elmer) unterworfen, die neben 1µM 3'-Primer T₁₂AC und 1µM 5'-Dekamer-Primer (5'-CCTTCTACCC-3'), 10 µCi α-P³³-dCTP, 2µM dNTP-Mix und 1 U AmpliTaq (Perkin Elmer) enthält. Das Gemisch wurde zunächst 1 min bei 94°C, dann 40 Zyklen mit

30

jeweils 30 s 94°C, 2 min 40°C und 30 s 72°C und abschließend 10 min bei 72°C inkubiert. Das entstehende DNA-Fragment-Gemisch wurde dann auf einem 6%igen Polyacrylamid-Gel aufgetrennt und autoradiographiert. Es wird so ein 321 bp großes DNA-Fragment dargestellt, welches nicht in der 5 Gesundherzprobe, jedoch deutlich in der insuffizienten Herzprobe vorhanden ist. Dieses Fragment wurde dann anhand des Röntgenfilmes aus dem Gel ausgeschnitten und mittels PCR unter den bereits beschriebenen Bedingungen reamplifiziert. Das erhaltene Fragment wurde dann in einen entsprechenden Vektor kloniert, und die DNA-Sequenz wurde bestimmt. Ein derartig darge- 10 stelltes Fragment enthält die Nukleotide 1627-1936 der Sequenz gemäß Anspruch 1 und die 12 Thymin-Nukleotide aus dem 3'-Anker-Primer.

2. Isolierung von herzspezifischen Nukleinsäuren

15

Mit Hilfe eines α -P³²-dCTP markierten DNA-Fragmentes aus Beispiel 1, das die Nukleotide von Position 1627-1936 nach Fig. 1 umfaßt, wurde eine Plaquehybridisierung mit einer cDNA-Genbank aus Herzgewebe nach Standardbedingungen durchgeführt (siehe Sambrook, J., Frisch, E. F. & Mania- 20 tis, T. (1989) *Molecular Cloning, A Laboratory Manual*, Kap. 8-10). Anschließend wurden die gefundenen cDNAs isoliert und sequenziert. Die Sequenzen sind in Fig. 1-3 dargestellt. Hierbei zeigte sich, daß sich die cDNA mit der Sequenz gemäß Fig. 1 mit größerer Wahrscheinlichkeit aus insuffizientem Herzgewebe isolieren ließ als die cDNA mit der Sequenz 25 gemäß Fig. 2 oder 3, welche sich mit größerer Wahrscheinlichkeit aus gesundem Herzgewebe isolieren ließ.

3. Nachweis der Expressionsstärke des herzspezifischen Gens in ver- 30 schiedenen menschlichen Geweben anhand von Northern Blots.

Das bereits in den Beispielen 1 und 2 und Fig. 1 beschriebene 321 bp große DNA-Fragment wurde zunächst mit α -P³²-dCTP mittels der "random primer labeling"-Methode (Feinberg, A. P. & Vogelstein, B. (1983) Anal. Biochem., 132, 6) radioaktiv markiert. Hierzu wurde das RTS RadPrime
5 DNA Labeling System (GibcoBRL 10387-017) verwendet. Die Hybridisierung von Blots mit poly A⁺-RNA aus menschlichen Geweben (siehe Fig. 5a und 5b) fand nach Herstellerangaben (Multiple Tissue Northern Blots I & II, Clontech Laboratories GmbH, Heidelberg, #7760-1, #7759-1) in ExpressHyb Hybridisierungslösung (Clontech #8015-1) 1 Stunde bei 68 °C statt. Die
10 Blots wurden anschließend 30 Minuten mit 2 x SSC und 0,05% SDS und danach 1 Stunde mit 0,1 x SSC und 0,1% SDS gewaschen und autoradiographiert. Es zeigte sich, daß die 321 bp große Sonde mit einer polyA⁺-RNA von ca. 2400 bp stark in Herzgewebe und Skelettmuskel, sehr schwach in Prostatagewebe und nicht in Leukozyten, Dickdarm-, Dünndarm-,
15 Eierstock-, Hoden-, Thymus-, Milz-, Niere-, Leber-, Lunge-, Plazenta- und Gehirngewebe hybridisiert (Fig. 5a).

Weiterhin wurde die Expression der entsprechenden RNAs in gesundem und insuffizientem Herzgewebe untersucht. Hierzu wurde aus verschiedenen
20 menschlichen Herzgewebeproben Gesamt-RNA isoliert (Chomczynski & Sacchi (1987), Anal. Biochem. 162, 156-159). Anschließend wurden jeweils 10 µg RNA mittels eines 1%igen Formaldehyd-Agarose Gels aufgetrennt und im Kapillarverfahren auf eine geladene Nylon-Membran transferiert (Zeta-Probe GT BioRad #162-0197). Die Membran wurde kurz mit 2 x SSC
25 gewaschen und dann bei 80 °C 30 Minuten gebacken. Die Membranen wurden mindestens 1 Stunde mit Prähybridisierlösung (0,5 M Na₂HPO₄, pH 7,2; 7% SDS) bei 65 °C inkubiert. Anschließend wurde die Lösung gegen eine frische Lösung ausgetauscht und die radioaktive, hitzedenaturierte Sonde hinzugegeben. Die Hybridisierung wurde 15 Stunden bei 65 °C durchgeführt.
30 Anschließend wurden die Membranen zunächst 15 Stunden bei 65 °C mit 40

mM Na_2HPO_4 , pH 7,2; 5% SDS, dann 2 x 30 Minuten bei 65 °C mit 40 mM Na_2HPO_4 , pH 7,2; 1% SDS gewaschen und anschließend autoradiographiert. Es zeigte sich, daß in 1%igen Agarose-Gelen verschiedene RNA-Spezien aufgetrennt wurden, die eine Größe von ca. 2200 bis ca. 2400 bp aufwiesen. Diese unterschiedlichen Spezies korrespondieren gut mit den Größen der drei gefundenen cDNAs inklusive eines durchschnittlichen polyA-Schwanzes von 150 bp Länge (siehe Fig. 1-3). Insbesondere die kleinste RNA-Spezies war im erkrankten Gewebe deutlicher nachzuweisen als im gesunden Gewebe. Die Quantifizierung der Blots mittels Phosphorimagers und der ImageQuant Software (Molecular Dynamics GmbH, Krefeld) unter Berücksichtigung einer Kontrollhybridisierung mit β 4-Thymosin und Aktin ergab eine um ungefähr 35% erhöhte Expression der nachgewiesenen RNAs in insuffizientem Herzgewebe im Vergleich zum gesunden Gewebe.

SEQUENZPROTOKOLL

(1) ALLGEMEINE ANGABEN:

(i) ANMELDER:

- (A) NAME: MediGene Aktiengesellschaft
- (B) STRASSE: Lochhamer Str. 11
- (C) ORT: 82152 Martinsried
- (E) LAND: Deutschland
- (F) POSTLEITZAHL: D-82152
- (G) TELEFON: 089-89 56 32 0
- (H) TELEFAX: 089-89 56 32 20

- (ii) BEZEICHNUNG DER ERFINDUNG: Herzspezifische Nukleinsaeure, ihre Herstellung und Verwendung

- (iii) ANZAHL DER SEQUENZEN: 5

(iv) COMPUTER-LESBARE FASSUNG:

- (A) DATENTRÄGER: Floppy disk
- (B) COMPUTER: IBM PC compatible
- (C) BETRIEBSSYSTEM: PC-DOS/MS-DOS
- (D) SOFTWARE: Word Perfect 3.1

(2) ANGABEN ZU SEQ ID NO: 1:

(i) SEQUENZKENNZEICHEN:

- (A) LÄNGE: 1936 Basenpaare
- (B) ART: Nucleotid
- (C) STRANGFORM: Einzelstrang
- (D) TOPOLOGIE: linear

- (ii) ART DES MOLEKÜLS: cDNA

- (iii) HYPOTHETISCH: NEIN

- (iv) ANTISENSE: JA

(vi) URSPRÜNGLICHE HERKUNFT:

- (F) GEWEBETYP: Herzgewebe

(xi) SEQUENZBESCHREIBUNG: SEQ ID NO: 1:

CAGCCTGCCA	CTTGCCCTCCC	TGCCTGCTTC	TGGCTGCCTT	GAATGCCTGG	TCCTTCAAGC	60
TCCTTCTGGG	TCTGACAAAG	CAGGGACCAT	GTCTACCTTT	GGCTACCGAA	GAGGACTCAG	120
TAAATACGAA	TCCATCGACG	AGGATGAACT	CCTCGCCTCC	CTGTCAGCCG	AGGAGCTGAA	180
GGAGCTAGAG	AGAGAGTTGG	AAGACATTGA	ACCTGACCGC	AACCTTCCCG	TGGGGCTAAG	240
GCAAAAGAGC	CTGACAGAGA	AAACCCCCAC	AGGGACATTC	AGCAGAGAGG	CACTGATGGC	300
CTATTGGGAA	AAGGAGTCCC	AAAACTCTT	GGAGAAGGAG	AGGCTGGGGG	AATGTGGAAA	360
GGTTGCAGAA	GACAAAGAGG	AAAGTGAAGA	AGAGCTTATC	TTTACTGAAA	GTAACAGTGA	420
GGTTTCTGAG	GAAGTGTATA	CAGAGGAGGA	GGAGGAGGAG	TCCCAGGAGG	AAGAGGAGGA	480
AGAAGACAGT	GACGAAGAGG	AAAGAACAAT	TGAAACTGCA	AAAGGGATTA	ATGGAACTGT	540

AAATTATGAT	AGTGTCAATT	CTGACAACCTC	TAAGCCAAAG	ATATTTAAAA	GTCAAATAGA	600
GAACATAAAT	TTGACCAATG	GCAGCAATGG	GAGGAACACA	GAGTCCCCAG	CTGCCATTCA	660
CCCTTGTGGA	AATCCTACAG	TGATTGAGGA	CGCTTTGGAC	AAGATTAAAA	GCAATGACCC	720
TGACACCACA	GAAGTCAATT	TGAACAACAT	TGAGAACATC	ACAACACAGA	CCCTTACCCG	780
CTTTGCTGAA	GCCCTCAAGG	ACAACACTGT	GGTGAAGACG	TTCAGTCTGG	CCAACACGCA	840
TGCCGACGAC	AGTGCAGCCA	TGGCCATTGC	AGAGATGCTC	AAAGCCAATG	AGCACATCAC	900
CAACGTAAAC	GTCGAGTCCA	ACTTCATAAC	GGGAAAGGGG	ATCCTGGCCA	TCATGAGAGC	960
TCTCCAGCAC	AACACGGTGC	TCACGGAGCT	GCGTTTCCAT	AACCAGAGGC	ACATCATGGG	1020
CAGCCAGGTG	GAAATGGAGA	TTGTCAAGCT	GCTGAAGGAG	AACACGACGC	TGCTGAGGCT	1080
GGGATACCAT	TTTGAACCTC	CAGGACCAAG	AATGAGCATG	ACGAGCATTT	TGACAAGAAA	1140
TATGGATAAA	CAGAGGCAAA	AACGTTTGCA	GGAGCAAAAA	CAGCAGGAGG	GATACGATGG	1200
AGGACCCAAT	CTTAGGACCA	AAGTCTGGCA	AAGAGGAACA	CCTAGCTCTT	CACCTTATGT	1260
ATCTCCAGG	CACTCACCCCT	GGTCATCCCC	AAAACCTCCCC	AAAAAAGTCC	AGACTGTGAG	1320
GAGCCGTCCT	CTGTCTCCTG	TGGCCACACT	TCCTCCTCCT	CCCCCTCCTC	CTCCTCCTCC	1380
CCCTCCTTCT	TCCCAAAGGC	TGCCACCACC	TCCTCCTCCT	CCCCCTCCTC	CACTCCCAGA	1440
GAAAAAGCTC	ATTACCAGAA	ACATTGCAGA	AGTCATCAAA	CAACAGGAGA	GTGCCCAACG	1500
GGCATTACAA	AATGGACAAA	AAAAGAAAAA	AGGGAAAAAG	GTCAAGAAAC	AGCCAAACAG	1560
TATTCTAAAG	GAAATAAAAA	ATTCTCTGAG	GTCAGTGCAA	GAGAAGAAAA	TGGAAGACAG	1620
TTCCCGACCT	TCTACCCAC	AGAGATCAGC	TCATGAGAAT	CTCATGGAAG	CAATTCGGGG	1680
AAGCAGCATA	AAACAGCTAA	AGCGGGTGGA	AGTTCCAGAA	GCCCTGCGAT	GGGAACATGA	1740
TCTTTAGAAG	AGGATGCAGA	ACTGTTCACT	GGTATTACAT	GAAATGCATT	GTGAGATGTT	1800
TCTA-AATAC	CTTCTTCAAT	TCAAAATGAT	CCCTGACTTT	AAAAATAATC	TCACCCATTA	1860
ATTCCAAAGA	GAATCTTAAG	AAACAATCAG	CATGTTTCTT	CTGTAAATAT	GAAAATAAAT	1920
TTCTTTTTTA	TGTCGT					1936

(2) ANGABEN ZU SEQ ID NO: 2:

(i) SEQUENZKENNZEICHEN:

- (A) LÄNGE: 2080 Basenpaare
- (B) ART: Nucleotid
- (C) STRANGFORM: Einzelstrang
- (D) TOPOLOGIE: linear

(ii) ART DES MOLEKÜLS: cDNA

(iii) HYPOTHETISCH: NEIN

(iv) ANTISENSE: JA

(vi) URSPRÜNGLICHE HERKUNFT:

- (F) GEWEBETYP: Herzgewebe

(xi) SEQUENZBESCHREIBUNG: SEQ ID NO: 2:

CAGCCTGCCA	CTTGCCTCCC	TGCCTGCTTC	TGGCTGCCTT	GAATGCCTGG	TCCTTCAAGC	60
TCCTTCTGGG	TCTGACAAAG	CAGGGACCAT	GTCTACCTTT	GGCTACCGAA	GAGGACTCAG	120
TAAATACGAA	TCCATCGACG	AGGATGAACT	CCTCGCCTCC	CTGTCAGCCG	AGGAGCTGAA	180
GGAGCTAGAG	AGAGAGTTGG	AAGACATTGA	ACCTGACCGC	AACCTTCCCC	TGGGGCTAAG	240
GCAAAGAGC	CTGACAGAGA	AAACCCCCAC	AGGGACATTC	AGCAGAGAGG	CACTGATGGC	300
CTATTGGGAA	AAGGAGTCCC	AAAAACTCTT	GGAGAAGGAG	AGGCTGGGGG	AATGTGGAAA	360
GGTTGCAGAA	GACAAAGAGG	AAAGTGAAGA	AGAGCTTATC	TTTACTGAAA	GTAACAGTGA	420
GGTTTCTGAG	GAAGTGTATA	CAGAGGAGGA	GGAGGAGGAG	TCCAGGAGG	AAGAGGAGGA	480
AGAAGACAGT	GACGAAGAGG	AAAGAACAAT	TGAAACTGCA	AAAGGGATTA	ATGGAAGTGT	540
AAATTATGAT	AGTGTCAATT	CTGACAATC	TAAGCCAAAG	ATATTTAAAA	GTCAAATAGA	600
GAACATAAAT	TTGACCAATG	GCAGCAATGG	GAGGAACACA	GAGTCCCCAG	CTGCCATTCA	660
CCCTTGTGGA	AATCCTACAG	TGATTGAGGA	CGCTTTGGAC	AAGATTAAAA	GCAATGACCC	720
TGACACCACA	GAAGTCAATT	TGAACAACAT	TGAGAACATC	ACAACACAGA	CCCTTACCCG	780
CTTTGCTGAA	GCCCTCAAGG	ACAACACTGT	GGTGAAGACG	TTCAGTCTGG	CCAACACGCA	840
TGCCGACGAC	AGTGCAGCCA	TGGCCATTGC	AGAGATGCTC	AAAGCCAATG	AGCACATCAC	900
CAACGTAAAC	GTCGAGTCCA	ACTTCATAAC	GGGAAAGGGG	ATCCTGGCCA	TCATGAGAGC	960
TCTCCAGCAC	AACACGGTGC	TCACGGAGCT	GCGTTTCCAT	AACCAGAGGC	ACATCATGGG	1020
CAGCCAGGTG	GAAATGGAGA	TTGTCAAGCT	GCTGAAGGAG	AACACGACGC	TGCTGAGGCT	1080
GGGATACCAT	TTTGAAGTCC	CAGGACCAAG	AATGAGCATG	ACGAGCATTT	TGACAAGAAA	1140
TATGGATAAA	CAGAGGCAAA	AACGTTTGCA	GGAGCAAAAA	CAGCAGGAGG	GATACGATGG	1200
AGGACCCAAT	CTTAGGACCA	AAGTCTGGCA	AAGAGGAACA	CCTAGCTCTT	CACCTTATGT	1260
ATCTCCCAGG	CACTCACCCCT	GGTCATCCCC	AAAACTCCCC	AAAAAAGTCC	AGACTGTGAG	1320
GAGCCGTCT	CTGTCTCCTG	TGGCCACACT	TCCTCCTCCT	CCCCCTCCTC	CTCCTCCTCC	1380
CCCTCCTTCT	TCCCAAAGGC	TGCCACCACC	TCCTCCTCCT	CCCCCTCCTC	CACTCCCAGA	1440
GAAAAAGCTC	ATTACCAGAA	ACATTGCAGA	AGTCATCAAA	CAACAGGAGA	GTGCCCCAAG	1500
GGCATTACAA	AATGGACAAA	AAAAGAAAAA	AGGGAAAAAG	GTCAAGAAAC	AGCCAAACAG	1560
TATTCTAAAG	GAAATAAAAA	ATTCTCTGAG	GTCAGTGCAA	GAGAAGAAAA	TGGAAGACAG	1620
TTCCCGACCT	TCTACCCAC	AGAGATCAGC	TCATGAGAA	CTCATGGAAG	CAATTCGGGG	1680
AAGCAGCATA	AAACAGCTAA	AGCGGGTGGA	AGTTCCAGAA	GCCCTGCGAT	GGGAACATGA	1740
TCTTTAGAAG	AGGATGCAGA	ACTGTTTCAGT	GGTATTACAT	GAAATGCATT	GTGAGATGTT	1800
TCTAAAATAC	CTTCTTCAAT	TCAAAATGAT	CCCTGACTTT	AAAAATAATC	TCACCCATTA	1860
ATTCCAAAGA	GAATCTTAAG	AAACAATCAG	CATGTTTCTT	CTGTAAATAT	GAAAAATAAT	1920
TTCTTTTTTA	TGTCGTGAGA	TTGTATTGG	CAAGAAGCAG	TTAATTTAAA	GATGCTCTTC	1980
CTATCTGTGG	ATGTGTTGGT	AACTCCGAGT	TGTAATGAGT	TCATGAAATG	TGCTGTTATT	2040
TTTGTAATCT	CAATAAATGT	GGATTGAAGT	TTTTTCCCTT			2080

(2) ANGABEN ZU SEQ ID NO: 3:

(i) SEQUENZKENNZEICHEN:

- (A) LÄNGE: 2268 Basenpaare
- (B) ART: Nucleotid
- (C) STRANGFORM: Einzelstrang
- (D) TOPOLOGIE: linear

(ii) ART DES MOLEKÜLS: cDNA

(iii) HYPOTHETISCH: NEIN

(iv) ANTISENSE: JA

(vi) URSPRÜNGLICHE HERKUNFT:

- (F) GEWEBETYP: Herzgewebe

(xi) SEQUENZBESCHREIBUNG: SEQ ID NO: 3:

CAGCCTGCCA	CTTGCCCTCCC	TGCCTGCTTC	TGGCTGCCTT	GAATGCCTGG	TCCTTCAAGC	60
TCCTTCTGGG	TCTGACAAAG	CAGGGACCAT	GTCTACCTTT	GGCTACCGAA	GAGGACTCAG	120
TAAATACGAA	TCCATCGACG	AGGATGAACT	CCTCGCCTCC	CTGTCAGCCG	AGGAGCTGAA	180
GGAGCTAGAG	AGAGAGTTGG	AAGACATTGA	ACCTGACCGC	AACCTTCCCG	TGGGGCTAAG	240
GCAAAAGAGC	CTGACAGAGA	AAACCCCCAC	AGGGACATTC	AGCAGAGAGG	CACTGATGGC	300
CTATTGGGAA	AAGGAGTCCC	AAAAACTCTT	GGAGAAGGAG	AGGCTGGGGG	AATGTGGAAA	360
GCTTGCAGAA	GACAAAGAGG	AAAGTGAAGA	AGAGCTTATC	TTTACTGAAA	GTAACAGTGA	420
GCTTTCTGAG	GAAGTGTATA	CAGAGGAGGA	GGAGGAGGAG	TCCCAGGAGG	AAGAGGAGGA	480
AGAAGACAGT	GACGAAGAGG	AAAGAACAAT	TGAAACTGCA	AAAGGGATTA	ATGGAAGTGT	540
AAATTATGAT	AGTGTCAATT	CTGACAACCTC	TAAGCCAAAG	ATATTTAAAA	GTCAAATAGA	600
GAACATAAAT	TTGACCAATG	GCAGCAATGG	GAGGAACACA	GAGTCCCCAG	CTGCCATTCA	660
CCCTTGTGGA	AATCCTACAG	TGATTGAGGA	CGCTTGGAC	AAGATTAAAA	GCAATGACCC	720
TGACACCACA	GAAGTCAATT	TGAACAACAT	TGAGAACATC	ACAACACAGA	CCCTTACCCG	780
CTTTGCTGAA	GCCCTCAAGG	ACAACACTGT	GGTGAAGACG	TTCAGTCTGG	CCAACACGCA	840
TGCCGACGAC	AGTGCAGCCA	TGGCCATTGC	AGAGATGCTC	AAAGCCAATG	AGCACATCAC	900
CAACGTAAAC	GTCGAGTCCA	ACTTCATAAC	GGGAAAGGGG	ATCCTGGCCA	TCATGAGAGC	960
TCTCCAGCAC	AACACGGTGC	TCACGGAGCT	GCGTTTCCAT	AACCAGAGGC	ACATCATGGG	1020
CAGCCAGGTG	GAAATGGAGA	TTGTCAAGCT	GCTGAAGGAG	AACACGACGC	TGCTGAGGCT	1080
GGGATACCAT	TTTGAAGTCC	CAGGACCAAG	AATGAGCATG	ACGAGCATTT	TGACAAGAAA	1140
TATGGATAAA	CAGAGGCAAA	AACGTTTGCA	GGAGCAAAAA	CAGCAGGAGG	GATACGATGG	1200
AGGACCCAAT	CTTAGGACCA	AAGTCTGGCA	AAGAGGAACA	CCTAGCTCTT	CACCTTATGT	1260
ATCTCCCAGG	CACTCACCCCT	GGTCATCCCC	AAAACCTCCC	AAAAAAGTCC	AGACTGTGAG	1320
GAGCCGTCCT	CTGTCTCCTG	TGGCCACACT	TCCTCCTCCT	CCCCCTCCTC	CTCCTCCTCC	1380

- 31 -

CCCTCCTTCT	TCCCAAAGGC	TGCCACCACC	TCCTCCTCCT	CCCCCTCCTC	CACTCCCAGA	1440
GAAAAAGCTC	ATTACCAGAA	ACATTGCAGA	AGTCATCAAA	CAACAGGAGA	GTGCCCCAACG	1500
GGCATTACAA	AATGGACAAA	AAAAGAAAAA	AGGGAAAAAG	GTCAAGAAAC	AGCCAAACAG	1560
TATTCTAAAG	GAAATAAAAA	ATTCTCTGAG	GTCAGTGCAA	GAGAAGAAAA	TGGAAGACAG	1620
TTCCCGACCT	TCTACCCAC	AGAGATCAGC	TCATGAGAAT	CTCATGGAAG	CAATTCGGGG	1680
AAGCAGCATA	AAACAGCTAA	AGCGGGTGGA	AGTTCCAGAA	GCCCTGCGAT	GGGAACATGA	1740
TCTTTAGAAG	AGGATGCAGA	ACTGTTTCAGT	GGTATTACAT	GAAATGCATT	GTGAGATGTT	1800
TCTAAAATAC	CTTCTTCAAT	TCAAAATGAT	CCCTGACTTT	AAAAATAATC	TCACCCATTA	1860
ATTCCAAAGA	GAATCTTAAG	AAACAATCAG	CATGTTTCTT	CTGTAAATAT	GAAAATAAAT	1920
TTCTTTTTTA	TGTCGTGAGA	TTTGTATTGG	CAAGAAGCAG	TTAATTTAAA	GATGCTCTTC	1980
CTATCTGTGG	ATGTGTTGGT	AACTCCGAGT	TGTAATGAGT	TCATGAAATG	TGCTGTTATT	2040
TTTGTAATCT	CAATAAATGT	GGATTGAAGT	TTTTTCCCTT	TTTTTAAAGC	CAAACATAATA	2100
TTTTTCTGTG	ACTTGATACA	TCTGTCAGAT	TTTTGTAATC	TCGATAAATG	TGTATTGAAG	2160
TTTTTTCCCT	TTTTTTAAAA	AGCCAAACTA	ATATTTTTCT	GTGAGTTAAT	ACATCTGTCA	2220
GGTGTGTATG	TAACATTACT	GGACATTAAA	AAAAATTATT	ACATTCTC		2268

(2) ANGABEN ZU SEQ ID NO: 4:

(i) SEQUENZKENNZEICHEN:

- (A) LÄNGE: 552 Aminosäuren
- (B) ART: Aminosäure
- (C) STRANGFORM: Einzelstrang
- (D) TOPOLOGIE: linear

(ii) ART DES MOLEKÜLS: Protein

(iii) HYPOTHETISCH: NEIN

(iv) ANTISENSE: JA

(vi) URSPRÜNGLICHE HERKUNFT:

- (F) GEWEBETYP: Herzgewebe

(xi) SEQUENZBESCHREIBUNG: SEQ ID NO: 4:

Met	Ser	Thr	Phe	Gly	Tyr	Arg	Arg	Gly	Leu	Ser	Lys	Tyr	Glu	Ser	Ile
1				5				10					15		
Asp	Glu	Asp	Glu	Leu	Leu	Ala	Ser	Leu	Ser	Ala	Glu	Glu	Leu	Lys	Glu
			20				25						30		
Leu	Glu	Arg	Glu	Leu	Glu	Asp	Ile	Glu	Pro	Asp	Arg	Asn	Leu	Pro	Val
	35					40					45				
Gly	Leu	Arg	Gln	Lys	Ser	Leu	Thr	Glu	Lys	Thr	Pro	Thr	Gly	Thr	Phe
	50				55						60				

- 32 -

Ser Arg Glu Ala Leu Met Ala Tyr Trp Glu Lys Glu Ser Gln Lys Leu
 65 70 75 80
 Leu Glu Lys Glu Arg Leu Gly Glu Cys Gly Lys Val Ala Glu Asp Lys
 85 90 95
 Glu Glu Ser Glu Glu Glu Leu Ile Phe Thr Glu Ser Asn Ser Glu Val
 100 105 110
 Ser Glu Glu Val Tyr Thr Glu Glu Glu Glu Glu Ser Gln Glu Glu
 115 120 125
 Glu Glu Glu Glu Asp Ser Asp Glu Glu Glu Arg Thr Ile Glu Thr Ala
 130 135 140
 Lys Gly Ile Asn Gly Thr Val Asn Tyr Asp Ser Val Asn Ser Asp Asn
 145 150 155 160
 Ser Lys Pro Lys Ile Phe Lys Ser Gln Ile Glu Asn Ile Asn Leu Thr
 165 170 175
 Asn Gly Ser Asn Gly Arg Asn Thr Glu Ser Pro Ala Ala Ile His Pro
 180 185 190
 Cys Gly Asn Pro Thr Val Ile Glu Asp Ala Leu Asp Lys Ile Lys Ser
 195 200 205
 Asn Asp Pro Asp Thr Thr Glu Val Asn Leu Asn Asn Ile Glu Asn Ile
 210 215 220
 Thr Thr Gln Thr Leu Thr Arg Phe Ala Glu Ala Leu Lys Asp Asn Thr
 225 230 235 240
 Val Val Lys Thr Phe Ser Leu Ala Asn Thr His Ala Asp Asp Ser Ala
 245 250 255
 Ala Met Ala Ile Ala Glu Met Leu Lys Ala Asn Glu His Ile Thr Asn
 260 265 270
 Val Asn Val Glu Ser Asn Phe Ile Thr Gly Lys Gly Ile Leu Ala Ile
 275 280 285
 Met Arg Ala Leu Gln His Asn Thr Val Leu Thr Glu Leu Arg Phe His
 290 295 300
 Asn Gln Arg His Ile Met Gly Ser Gln Val Glu Met Glu Ile Val Lys
 305 310 315 320
 Leu Leu Lys Glu Asn Thr Thr Leu Leu Arg Leu Gly Tyr His Phe Glu
 325 330 335
 Leu Pro Gly Pro Arg Met Ser Met Thr Ser Ile Leu Thr Arg Asn Met
 340 345 350
 Asp Lys Gln Arg Gln Lys Arg Leu Gln Glu Gln Lys Gln Gln Glu Gly
 355 360 365
 Tyr Asp Gly Gly Pro Asn Leu Arg Thr Lys Val Trp Gln Arg Gly Thr
 370 375 380

- 33 -

Pro Ser Ser Ser Pro Tyr Val Ser Pro Arg His Ser Pro Trp Ser Ser
 385 390 395 400
 Pro Lys Leu Pro Lys Lys Val Gln Thr Val Arg Ser Arg Pro Leu Ser
 405 410 415
 Pro Val Ala Thr Leu Pro Pro Pro Pro Pro Pro Pro Pro Pro Pro
 420 425 430
 Pro Ser Ser Gln Arg Leu Pro Pro Pro Pro Pro Pro Pro Pro Pro Pro
 435 440 445
 Leu Pro Glu Lys Lys Leu Ile Thr Arg Asn Ile Ala Glu Val Ile Lys
 450 455 460
 Gln Gln Glu Ser Ala Gln Arg Ala Leu Gln Asn Gly Gln Lys Lys Lys
 465 470 475 480
 Lys Gly Lys Lys Val Lys Lys Gln Pro Asn Ser Ile Leu Lys Glu Ile
 485 490 495
 Lys Asn Ser Leu Arg Ser Val Gln Glu Lys Lys Met Glu Asp Ser Ser
 500 505 510
 Arg Pro Ser Thr Pro Gln Arg Ser Ala His Glu Asn Leu Met Glu Ala
 515 520 525
 Ile Arg Gly Ser Ser Ile Lys Gln Leu Lys Arg Val Glu Val Pro Glu
 530 535 540
 Ala Leu Arg Trp Glu His Asp Leu
 545 550

(2) ANGABEN ZU SEQ ID NO: 5:

(i) SEQUENZKENNZEICHEN:

- (A) LÄNGE: 10 Basenpaare
- (B) ART: Nucleotid
- (C) STRANGFORM: Einzelstrang
- (D) TOPOLOGIE: linear

(ii) ART DES MOLEKÜLS: cDNA

(iii) HYPOTHETISCH: NEIN

(iv) ANTISENSE: JA

(vi) URSPRÜNGLICHE HERKUNFT:

(F) GEWEBETYP: Herzgewebe

(xi) SEQUENZBESCHREIBUNG: SEQ ID NO: 5:

CCTTCTACCC

- 34 -

(2) ANGABEN ZU SEQ ID NO: 6:

(i) SEQUENZKENNZEICHEN:

- (A) LÄNGE: 279 Basenpaare
- (B) ART: Nucleotid
- (C) STRANGFORM: Einzelstrang
- (D) TOPOLOGIE: linear

(ii) ART DES MOLEKÜLS: cDNA

(iii) HYPOTHETISCH: NEIN

(iv) ANTISENSE: JA

(vi) URSPRÜNGLICHE HERKUNFT:

- (F) GEWEBETYP: Herzgewebe

(xi) SEQUENZBESCHREIBUNG: SEQ ID NO: 6:

GCCAACACGC	ANTCCGACGA	CAGTGCAGCC	ATGGTCATTG	CAGAGATGCN	TCAAAGTCAA	60
TGAGCACATC	ACCAACGTAA	ACGTCGAGTC	CAACTTCATA	ACGGGAAAGG	GGATCCTGGC	120
CATCATGAGA	GCTCTCCAGC	ACAACACGGT	GCTCACGGAG	CTGCGGTTTC	ATAACCAGAG	180
GCACATCATG	GGCAGCCAGG	TGGAAATGGA	GATTGTCAAG	CTNCTGAAGG	AGAACACGAC	240
GCTNCTGAGG	CTGGGNTACC	ATTTTNAACT	CCCAGGACC			279

(2) ANGABEN ZU SEQ ID NO: 7:

(i) SEQUENZKENNZEICHEN:

- (A) LÄNGE: 93 Aminosäuren
- (B) ART: Aminosäure
- (C) STRANGFORM: Einzelstrang
- (D) TOPOLOGIE: linear

(ii) ART DES MOLEKÜLS: Peptid

(iii) HYPOTHETISCH: NEIN

(iv) ANTISENSE: JA

(vi) URSPRÜNGLICHE HERKUNFT:

- (F) GEWEBETYP: Herzgewebe

(xi) SEQUENZBESCHREIBUNG: SEQ ID NO: 7:

PTRNPTTVQPSLQRCIKVNEHITNVNVESNFITGKGILAIMRALQ
 10 20 30 40
 HNTVLTELRFHNQRHIMGSQVEMEIVKLLKENTLLRLGYHFKLPG
 50 60 70 80 90

5

Patentansprüche

1. Nukleinsäure kodierend für ein Polypeptid mit einer Aminosäuresequenz gemäß Fig. 4 oder eine funktionelle Variante davon, und
10 Teile davon mit mindestens 8 Nukleotiden, ausgenommen eine Nukleinsäure mit der Sequenz:

1 GCCAACACGC ANTCCGACGA CAGTGCAGCC ATGGTCATTG CAGAGATGCN TCAAAGTCAA
61 TGAGCACATC ACCAACGTAA ACGTCGAGTC CAACTTCATA ACGGGAAAGG GGATCCTGGC
15 121 CATCATGAGA GCTCTCCAGC ACAACACGGT GCTCACGGAG CTGCGTTTCC ATAACCAGAG
181 GCACATCATG GGCAGCCAGG TGGAAATGGA GATTGTCAAG CTNCTGAAGG AGAACACGAC
241 GCTNCTGAGG CTGGGNTACC ATTTTNAACT CCCAGGACC

2. Nukleinsäure nach Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet, daß die
20 Nukleinsäure eine DNA oder RNA, vorzugsweise eine DNA, insbesondere eine doppelsträngige DNA ist.
3. Nukleinsäure nach Anspruch 1 oder 2, dadurch gekennzeichnet, daß
25 die Nukleinsäure eine DNA mit einer Nukleinsäuresequenz gemäß Fig. 1, 2 oder 3 enthält.
4. Nukleinsäure nach einem der Ansprüche 1-3, dadurch gekennzeichnet, daß die Nukleinsäure in einem Vektor, vorzugsweise in einem Expressionsvektor oder gentherapeutisch wirksamen Vektor, enthalten
30 ist.
5. Nukleinsäure nach einem der Ansprüche 1-4, dadurch gekennzeichnet, daß der Teil der Nukleinsäure, der für das Polypeptid kodiert,

eine oder mehrere nicht-kodierende Sequenzen und/oder eine polyA-Sequenz enthält.

- 5 6. Verfahren zur Herstellung einer Nukleinsäure nach einem der Ansprüche 1-5, dadurch gekennzeichnet, daß die Nukleinsäure chemisch synthetisiert oder anhand einer Sonde aus einer Genbank isoliert wird.

- 10 7. Polypeptid mit einer Aminosäuresequenz gemäß Fig. 4 oder eine funktionelle Variante davon, und Teile davon mit mindestens 6 Aminosäuren, ausgenommen ein Polypeptid mit der Sequenz:

PTRNPTTVQPWSLQRCIKVNEHITNVNVESNFITGKGILAIMRALQ
 10 20 30 40
15 HNTVLTELRFHNQRHIMGSQVEMEIVKLLKENTTLLRLGYHFKLPG
 50 60 70 80 90

- 20 8. Verfahren zur Herstellung eines Polypeptids gemäß Anspruch 7, dadurch gekennzeichnet, daß eine Nukleinsäure gemäß einem der Ansprüche 1-3 in einer geeigneten Wirtszelle exprimiert wird.

- 25 9. Antikörper gegen ein Polypeptid mit einer Aminosäuresequenz gemäß Fig. 4 oder eine funktionelle Variante davon, und Teile davon mit mindestens 6 Aminosäuren.

- 30 10. Verfahren zur Herstellung eines Antikörpers gemäß Anspruch 9, dadurch gekennzeichnet, daß ein Säugetier mit einem Polypeptid mit einer Aminosäuresequenz gemäß Fig. 4 oder eine funktionelle Variante davon, und Teile davon mit mindestens 6 Aminosäuren immunisiert und die entstandenen Antikörper isoliert werden.

11. Arzneimittel enthaltend eine Nukleinsäure kodierend für ein Polypeptid mit einer Aminosäuresequenz gemäß Fig. 4 oder eine funktionelle Variante davon, und Teile davon mit mindestens 8 Nukleotiden, oder ein Polypeptid mit einer Aminosäuresequenz gemäß Fig. 4 oder eine funktionelle Variante davon, und Teile davon mit mindestens 6 Aminosäuren, und gegebenenfalls einen pharmazeutisch annehmbaren Träger.
12. Verfahren zur Herstellung eines Arzneimittels zur Behandlung von Herzerkrankungen, dadurch gekennzeichnet, daß eine Nukleinsäure kodierend für ein Polypeptid mit einer Aminosäuresequenz gemäß Fig. 4 oder eine funktionelle Variante davon, und Teile davon mit mindestens 8 Nukleotiden, oder ein Polypeptid mit einer Aminosäuresequenz gemäß Fig. 4 oder eine funktionelle Variante davon, und Teile davon mit mindestens 6 Aminosäuren mit einem pharmazeutisch annehmbaren Träger formuliert wird.
13. Diagnostikum enthaltend eine Nukleinsäure kodierend für ein Polypeptid mit einer Aminosäuresequenz gemäß Fig. 4 oder eine funktionelle Variante davon, und Teile davon mit mindestens 8 Nukleotiden, ein Polypeptid mit einer Aminosäuresequenz gemäß Fig. 4 oder eine funktionelle Variante davon, und Teile davon mit mindestens 6 Aminosäuren, oder Antikörper gemäß Anspruch 9 und gegebenenfalls geeignete Zusatz- oder Hilfsstoffe.
14. Verfahren zur Herstellung eines Diagnostikums zur Diagnose von Herzerkrankungen, dadurch gekennzeichnet, daß eine Nukleinsäure kodierend für ein Polypeptid mit einer Aminosäuresequenz gemäß Fig. 4 oder eine funktionelle Variante davon, und Teile davon mit mindestens 8 Nukleotiden, ein Polypeptid mit einer Aminosäuresequenz gemäß Fig. 4 oder eine funktionelle Variante davon, und Teile davon mit mindestens 6 Aminosäuren, oder Antikörper gemäß Anspruch 9 und gegebenenfalls geeignete Zusatz- oder Hilfsstoffe.

quenz gemäß Fig. 4 oder eine funktionelle Variante davon, und Teile davon mit mindestens 6 Aminosäuren, oder Antikörper gemäß Anspruch 9 mit einem pharmazeutisch annehmbaren Träger versetzt wird.

5

15. Test zur Identifizierung funktioneller Interaktoren enthaltend eine Nukleinsäure kodierend für ein Polypeptid mit einer Aminosäuresequenz gemäß Fig. 4 oder eine funktionelle Variante davon, und Teile davon mit mindestens 8 Nukleotiden, oder ein Polypeptid mit
10 einer Aminosäuresequenz gemäß Fig. 4 oder eine funktionelle Variante davon, und Teile davon mit mindestens 6 Aminosäuren, und gegebenenfalls geeignete Zusatz- oder Hilfsstoffe.

15

1/10

Fig. 1

	CAGCCTGCCA	CTTGCCTCCC	TGCCTGCTTC	TGGCTGCCTT
	GAATGCCTGG	TCCTTCAAGC	TCCTTCTGGG	TCTGACAAAG
5	CAGGGACCAT	GTCTACCTTT	GGCTACCGAA	GAGGACTCAG
	TAAATACGAA	TCCATCGACG	AGGATGAACT	CCTCGCCTCC
	CTGTCAGCCG	AGGAGCTGAA	GGAGCTAGAG	AGAGAGTTGG
	AAGACATTGA	ACCTGACCGC	AACCTTCCCG	TGGGGCTAAG
	GCAAAAGAGC	CTGACAGAGA	AAACCCCCAC	AGGGACATTC
10	AGCAGAGAGG	CACTGATGGC	CTATTGGGAA	AAGGAGTCCC
	AAAAACTCTT	GGAGAAGGAG	AGGCTGGGGG	AATGTGGAAG
	GGTTGCAGAA	GACAAAGAGG	AAAGTGAAGA	AGAGCTTATC
	TTTACTGAAA	GTAACAGTGA	GGTTTCTGAG	GAAGTGTATA
	CAGAGGAGGA	GGAGGAGGAG	TCCCAGGAGG	AAGAGGAGGA
15	AGAAGACAGT	GACGAAGAGG	AAAGAACAAT	TGAAACTGCA
	AAAGGGATTA	ATGGAAGTGT	AAATTATGAT	AGTGTCAATT
	CTGACAACTC	TAAGCCAAAG	ATATTTAAAA	GTCAAATAGA
	GAACATAAAT	TTGACCAATG	GCAGCAATGG	GAGGAACACA
	GAGTCCCCAG	CTGCCATTCA	CCCTTGCTGA	AATCCTACAG
20	TGATTGAGGA	CGCTTTGGAC	AAGATTAAAA	GCAATGACCC
	TGACACCACA	GAAGTCAATT	TGAACAACAT	TGAGAACATC
	ACAACACAGA	CCCTTACCCG	CTTTGCTGAA	GCCCTCAAGG
	ACAACACTGT	GGTGAAGACG	TTCAGTCTGG	CCAACACGCA
	TGCCGACGAC	AGTGCAGCCA	TGGCCATTGC	AGAGATGCTC
25	AAAGCCAATG	AGCACATCAC	CAACGTAAAC	GTCGAGTCCA
	ACTTCATAAC	GGGAAAGGGG	ATCCTGGCCA	TCATGAGAGC
	TCTCCAGCAC	AACACGGTGC	TCACGGAGCT	GCGTTTCCAT

2/10

	AACCAGAGGC	ACATCATGGG	CAGCCAGGTG	GAAATGGAGA
	TTGTCAAGCT	GCTGAAGGAG	AACACGACGC	TGCTGAGGCT
	GGGATACCAT	TTTGAAGTCC	CAGGACCAAG	AATGAGCATG
	ACGAGCATTT	TGACAAGAAA	TATGGATAAA	CAGAGGCCAAA
5	AACGTTTGCA	GGAGCAAAAA	CAGCAGGAGG	GATACGATGG
	AGGACCCAAT	CTTAGGACCA	AAGTCTGGCA	AAGAGGAACA
	CCTAGCTCTT	CACCTTATGT	ATCTCCCAGG	CACTCACCCCT
	GGTCATCCCC	AAAAGTCCCC	AAAAAAGTCC	AGACTGTGAG
	GAGCCGTCCT	CTGTCTCCTG	TGGCCACACT	TCCTCCTCCT
10	CCCCCTCCTC	CTCCTCCTCC	CCCTCCTTCT	TCCCAAAGGC
	TGCCACCACC	TCCTCCTCCT	CCCCCTCCTC	CACTCCCAGA
	GAAAAAGCTC	ATTACCAGAA	ACATTGCAGA	AGTCATCAAA
	CAACAGGAGA	GTGCCCAACG	GGCATTACAA	AATGGACAAA
	AAAAGAAAAA	AGGGAAAAAG	GTCAAGAAAC	AGCCAAACAG
15	TATTCTAAAG	GAAATAAAAA	ATTCTCTGAG	GTCAGTGCAA
	GAGAAGAAAA	TGGAAGACAG	TTCCCGACCT	<u>TCTACCCAC</u>
	<u>AGAGATCAGC</u>	<u>TCATGAGAAT</u>	<u>CTCATGGAAG</u>	<u>CAATTCGGGG</u>
	<u>AAGCAGCATA</u>	<u>AAACAGCTAA</u>	<u>AGCGGGTGGA</u>	<u>AGTTCCAGAA</u>
	<u>GCCCTGCGAT</u>	<u>GGGAACATGA</u>	<u>TCTTTAGAAG</u>	<u>AGGATGCAGA</u>
20	<u>ACTGTTCACT</u>	<u>GGTATTACAT</u>	<u>GAAATGCATT</u>	<u>GTGAGATGTT</u>
	<u>TCTAAAATAC</u>	<u>CTTCTTCAAT</u>	<u>TCAAAATGAT</u>	<u>CCCTGACTTT</u>
	<u>AAAAATAATC</u>	<u>TCACCCATTA</u>	<u>ATTCCAAAGA</u>	<u>GAATCTTAAG</u>
	<u>AAACAATCAG</u>	<u>CATGTTTCTT</u>	<u>CTGTAAATAT</u>	<u>GAAAATAAAT</u>
	<u>TTCTTTTTTA</u>	<u>TGTCGT-poly (A) -Schwanz</u>		

3/10

Fig. 2

	CAGCCTGCCA	CTTGCCTCCC	TGCCTGCTTC	TGGCTGCCTT
	GAATGCCTGG	TCCTTCAAGC	TCCTTCTGGG	TCTGACAAAG
5	CAGGGACCAT	GTCTACCTTT	GGCTACCGAA	GAGGACTCAG
	TAAATACGAA	TCCATCGACG	AGGATGAACT	CCTCGCCTCC
	CTGTCAGCCG	AGGAGCTGAA	GGAGCTAGAG	AGAGAGTTGG
	AAGACATTGA	ACCTGACCGC	AACCTTCCCG	TGGGGCTAAG
	GCAAAAGAGC	CTGACAGAGA	AAACCCCCAC	AGGGACATTC
10	AGCAGAGAGG	CACTGATGGC	CTATTGGGAA	AAGGAGTCCC
	AAAAACTCTT	GGAGAAGGAG	AGGCTGGGGG	AATGTGGAAA
	GGTTGCAGAA	GACAAAGAGG	AAAGTGAAGA	AGAGCTTATC
	TTTACTGAAA	GTAACAGTGA	GGTTTCTGAG	GAAGTGTATA
	CAGAGGAGGA	GGAGGAGGAG	TCCCAGGAGG	AAGAGGAGGA
15	AGAAGACAGT	GACGAAGAGG	AAAGAACAAT	TGAAACTGCA
	AAAGGGATTA	ATGGAAGTGT	AAATTATGAT	AGTGTCAATT
	CTGACAATC	TAAGCCAAAG	ATATTTAAAA	GTCAAATAGA
	GAACATAAAT	TTGACCAATG	GCAGCAATGG	GAGGAACACA
	GAGTCCCCAG	CTGCCATTCA	CCCTTGTTGA	AATCCTACAG
20	TGATTGAGGA	CGCTTTGGAC	AAGATTAAAA	GCAATGACCC
	TGACACCACA	GAAGTCAATT	TGAACAACAT	TGAGAACATC
	ACAACACAGA	CCCTTACCCG	CTTTGCTGAA	GCCCTCAAGG
	ACAACACTGT	GGTGAAGACG	TTCAGTCTGG	CCAACACGCA
	TGCCGACGAC	AGTGCAGCCA	TGGCCATTGC	AGAGATGCTC
25	AAAGCCAATG	AGCACATCAC	CAACGTAAAC	GTCGAGTCCA
	ACTTCATAAC	GGGAAAGGGG	ATCCTGGCCA	TCATGAGAGC
	TCTCCAGCAC	AACACGGTGC	TCACGGAGCT	GCGTTTCCAT
	AACCAGAGGC	ACATCATGGG	CAGCCAGGTG	GAAATGGAGA

4/10

	TTGTCAAGCT	GCTGAAGGAG	AACACGACGC	TGCTGAGGCT
	GGGATACCAT	TTTGAAGTCC	CAGGACCAAG	AATGAGCATG
	ACGAGCATTT	TGACAAGAAA	TATGGATAAA	CAGAGGCAAA
	AACGTTTGCA	GGAGCAAAAA	CAGCAGGAGG	GATACGATGG
5	AGGACCCAAT	CTTAGGACCA	AAGTCTGGCA	AAGAGGAACA
	CCTAGCTCTT	CACCTTATGT	ATCTCCCAGG	CACTCACCCCT
	GGTCATCCCC	AAAGTCTCCC	AAAAAAGTCC	AGACTGTGAG
	GAGCCGTCCT	CTGTCTCCTG	TGGCCACACT	TCCTCCTCCT
	CCCCCTCCTC	CTCCTCCTCC	CCCTCCTTCT	TCCCAAAGGC
10	TGCCACCACC	TCCTCCTCCT	CCCCCTCCTC	CACTCCCAGA
	GAAAAAGCTC	ATTACCAGAA	ACATTGCAGA	AGTCATCAAA
	CAACAGGAGA	GTGCCCCAACG	GGCATTACAA	AATGGACAAA
	AAAAGAAAAA	AGGGAAAAAG	GTCAAGAAAC	AGCCAAACAG
	TATTCTAAAG	GAAATAAAAA	ATTCTCTGAG	GTCAGTGCAA
15	GAGAAGAAAA	TGGAAGACAG	TTCCCGACCT	TCTACCCCAC
	AGAGATCAGC	TCATGAGAAT	CTCATGGAAG	CAATTTCGGGG
	AAGCAGCATA	AAACAGCTAA	AGCGGGTGGG	AGTTCCAGAA
	GCCCTGCGAT	GGGAACATGA	TCTTTAGAAG	AGGATGCAGA
	ACTGTTTCAGT	GGTATTACAT	GAAATGCATT	GTGAGATGTT
20	TCTAAAATAC	CTTCTTCAAT	TCAAAATGAT	CCCTGACTTT
	AAAAATAATC	TCACCCATTA	ATTCCAAAGA	GAATCTTAAG
	AAACAATCAG	CATGTTTCTT	CTGTAAATAT	GAAAATAAAT
	TTCTTTTTTA	TGTCGTGAGA	TTTGTATTGG	CAAGAAGCAG
	TTAATTTAAA	GATGCTCTTC	CTATCTGTGG	ATGTGTTGGT
25	AACTCCGAGT	TGTAATGAGT	TCATGAAATG	TGCTGTTATT
	TTTGTAATCT	CAATAAATGT	GGATTGAAGT	TTTTTCCCTT

-poly(A) -Schwanz

5/10

Fig. 3

	CAGCCTGCCA	CTTGCCTCCC	TGCCTGCTTC	TGGCTGCCTT
	GAATGCCTGG	TCCTTCAAGC	TCCTTCTGGG	TCTGACAAAG
5	CAGGGACCAT	GTCTACCTTT	GGCTACCGAA	GAGGACTCAG
	TAAATACGAA	TCCATCGACG	AGGATGAACT	CCTCGCCTCC
	CTGTCAGCCG	AGGAGCTGAA	GGAGCTAGAG	AGAGAGTTGG
	AAGACATTGA	ACCTGACCGC	AACCTTCCCG	TGGGGCTAAG
	GCAAAAGAGC	CTGACAGAGA	AAACCCCCAC	AGGGACATTC
10	AGCAGAGAGG	CACTGATGGC	CTATTGGGAA	AAGGAGTCCC
	AAAAACTCTT	GGAGAAGGAG	AGGCTGGGGG	AATGTGGAAA
	GGTTGCAGAA	GACAAAGAGG	AAAGTGAAGA	AGAGCTTATC
	TTTACTGAAA	GTAACAGTGA	GGTTTCTGAG	GAAGTGTATA
	CAGAGGAGGA	GGAGGAGGAG	TCCCAGGAGG	AAGAGGAGGA
15	AGAAGACAGT	GACGAAGAGG	AAAGAACAAT	TGAAACTGCA
	AAAGGGATTA	ATGGAAGTGT	AAATTATGAT	AGTGTCAATT
	CTGACAACTC	TAAGCCAAAG	ATATTTAAAA	GTCAAATAGA
	GAACATAAAT	TTGACCAATG	GCAGCAATGG	GAGGAACACA
	GAGTCCCCAG	CTGCCATTCA	CCCTTGTGGA	AATCCTACAG
20	TGATTGAGGA	CGCTTTGGAC	AAGATTAAAA	GCAATGACCC
	TGACACCACA	GAAGTCAATT	TGAACAACAT	TGAGAACATC
	ACAACACAGA	CCCTTACCCG	CTTTGCTGAA	GCCCTCAAGG
	ACAACACTGT	GGTGAAGACG	TTCAGTCTGG	CCAACACGCA
	TGCCGACGAC	AGTGCAGCCA	TGGCCATTGC	AGAGATGCTC
25	AAAGCCAATG	AGCACATCAC	CAACGTAAAC	GTCGAGTCCA
	ACTTCATAAC	GGGAAAGGGG	ATCCTGGCCA	TCATGAGAGC
	TCTCCAGCAC	AACACGGTGC	TCACGGAGCT	GCGTTTCCAT
	AACCAGAGGC	ACATCATGGG	CAGCCAGGTG	GAAATGGAGA

6/10

	TTGTCAAGCT	GCTGAAGGAG	AACACGACGC	TGCTGAGGCT
	GGGATACCAT	TTTGAAGTCC	CAGGACCAAG	AATGAGCATG
	ACGAGCATTT	TGACAAGAAA	TATGGATAAA	CAGAGGCCAAA
	AACGTTTGCA	GGAGCAAAAA	CAGCAGGAGG	GATACGATGG
5	AGGACCCAAT	CTTAGGACCA	AAGTCTGGCA	AAGAGGAACA
	CCTAGCTCTT	CACCTTATGT	ATCTCCCAGG	CACTCACCCCT
	GGTCATCCCC	AAAGTCTCCC	AAAAAAGTCC	AGACTGTGAG
	GAGCCGTCCT	CTGTCTCCTG	TGGCCACACT	TCCTCCTCCT
	CCCCCTCCTC	CTCCTCCTCC	CCCTCCTTCT	TCCCAAAGGC
10	TGCCACCACC	TCCTCCTCCT	CCCCCTCCTC	CACTCCCAGA
	GAAAAAGCTC	ATTACCAGAA	ACATTGCAGA	AGTCATCAAA
	CAACAGGAGA	GTGCCCCAACG	GGCATTACAA	AATGGACAAA
	AAAAGAAAAA	AGGGAAAAAG	GTCAAGAAAC	AGCCAAACAG
	TATTCTAAAG	GAAATAAAAA	ATTCTCTGAG	GTCAGTGCAA
15	GAGAAGAAAA	TGGAAGACAG	TTCCCGACCT	TCTACCCCAC
	AGAGATCAGC	TCATGAGAAT	CTCATGGAAG	CAATTGCGGG
	AAGCAGCATA	AAACAGCTAA	AGCGGGTGGA	AGTTCCAGAA
	GCCCTGCGAT	GGGAACATGA	TCTTTAGAAG	AGGATGCAGA
	ACTGTTCAGT	GGTATTACAT	GAAATGCATT	GTGAGATGTT
20	TCTAAAATAC	CTTCTTCAAT	TCAAAATGAT	CCCTGACTTT
	AAAATAATC	TCACCCATTA	ATTCCAAAGA	GAATCTTAAG
	AAACAATCAG	CATGTTTCTT	CTGTAAATAT	GAAAATAAAT
	TTCTTTTTTA	TGTCGTGAGA	TTTGTATTGG	CAAGAAGCAG
	TTAATTTAAA	GATGCTCTTC	CTATCTGTGG	ATGTGTTGGT
25	AACTCCGAGT	TGTAATGAGT	TCATGAAATG	TGCTGTTATT
	TTTGTAATCT	CAATAAATGT	GGATTGAAGT	TTTTTCCCTT
	TTTTTTAAAGC	CAAATAATA	TTTTTCTGTG	ACTTGATACA
	TCTGTCAGAT	TTTTGTAAATC	TCGATAAATG	TGTATTGAAG

7/10

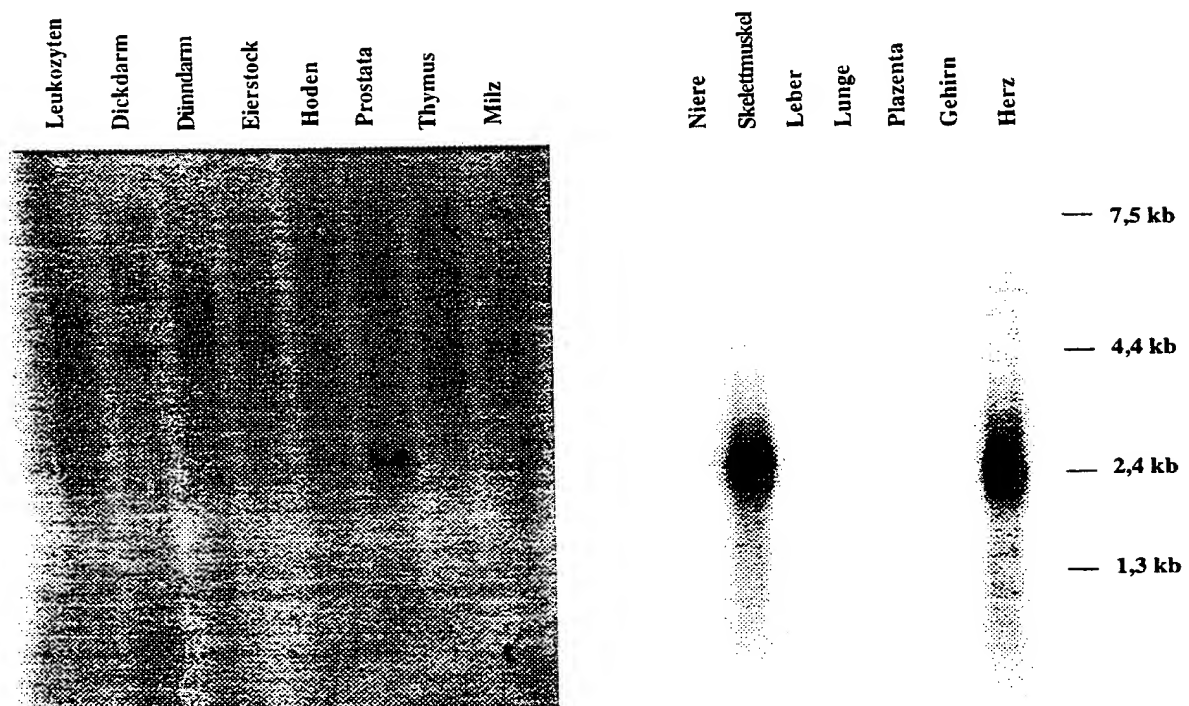
TTTTTCCCT	TTTTTTAAAA	AGCCAAACTA	ATATTTTCT
GTGAGTTAAT	ACATCTGTCAG	GTGTGTATGT	AACATTACTG
GACATTAAAA	AAAATTATTAC	ATTCTC-poly (A)	-Schwanz

8/10

Fig. 4

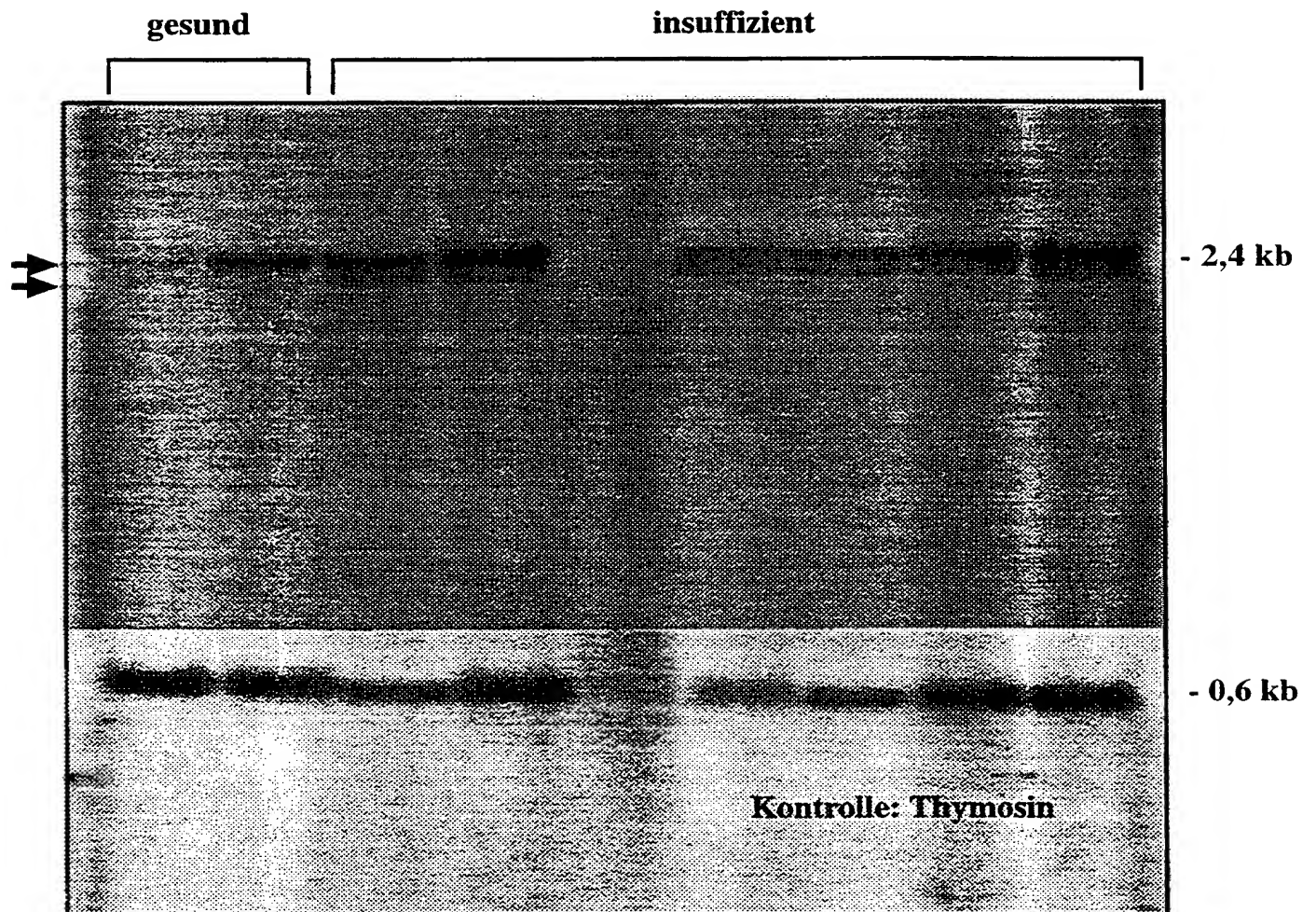
	MSTFGYRRGL	SKYESIDED	LLASLSAEEL	KELERELEDI
5	EPDRNLPVGL	RQKSLTEKTP	TGTFSREALM	AYWEKESQKL
	LEKERLGECG	KVAEDKEESE	EELIFTESNS	EVSEEVYTEE
	EEEEEQEEEE	EEDSDEEERT	IETAKGINGT	VNYDSVNSDN
	SKPKIFKSQI	ENINLTNGSN	GRNTESPAAI	HPCGNPTVIE
	DALDKIKSND	PDTTEVNLNN	IENITTQTLT	RFAEALKDNT
10	VVKTFSLANT	HADDSAAMAI	AEMLKANEHI	TNVNVESNFI
	TGKGILAIMR	ALQHNTVLTE	LRFHNQRHIM	GSQVEMEIVK
	LLKENTTLR	LGYHFELPGP	RMSMTSILTR	NMDKQRQKRL
	QEQKQQEGYD	GGPNLRTKVW	QRGTPSSSPY	VSPRHSPWSS
	<u>PKLPKKVQTV</u>	RSRPLSPVAT	LPPPPPPPPP	PPPSSQRLPP
15	<u>PPPPPPPLP</u>	<u>EKKLITR</u> NIA	EVIKQQESAQ	RALQNGQKKK
	KGKKVKKQPN	SILKEIKNSL	RSVQEKKMED	SSRPSTPQRS
	AHENLMEAIR	GSSIKQLKRV	EVPEALRWEH	DL.

9/10

Fig. 5a Nachweis der Expression in menschlichen Geweben

10/10

Fig. 5b Nachweis der Expression in gesundem und insuffizientem menschlichem Herzgewebe



INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International Application No

PCT/EP 98/03584

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

IPC 6 C12N15/12 C12N15/85 C07K14/47 C12Q1/68 C07K16/18
G01N33/50 A61K48/00

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)

IPC 6 C07K

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practical, search terms used)

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
Y	DATABASE EMBL EST AC:W12756, 1996 MARRA ET AL.: "THE WASHU-HHMI MOUSE EST PROJECT" XP002084570	1-15
Y	DATABASE EMBL EST AC:AA249091, 13 March 1997 LIEW: "cDNAs FROM HUMAN FETAL HEART" XP002084571	1-15

☒ Further documents are listed in the continuation of box C.

☒ Patent family members are listed in annex.

* Special categories of cited documents:

"A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance

"E" earlier document but published on or after the international filing date

"L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)

"O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means

"P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed

"T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention

"X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone

"Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art.

"&" document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search

16 November 1998

Date of mailing of the international search report

01/12/1998

Name and mailing address of the ISA

European Patent Office, P.B. 5818 Patentlaan 2
NL - 2280 HV Rijswijk
Tel. (+31-70) 340-2040, Tx. 31 651 epo nl,
Fax: (+31-70) 340-3016

Authorized officer

Hagenmaier, S

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International Application No

PCT/EP 98/03584

C.(Continuation) DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
Y	WATAKABE ET AL.: "N-TROPOMODULIN: A NOVEL ISOFORM OF TROPOMODULIN IDENTIFIED AS THE MAJOR BINDING PROTEIN TO BRAIN TROPOMYOSIN" JOURNAL OF CELL SCIENCE, vol. 109, 1996, pages 2299-2310, XP002084565 see the whole document	1-15
Y	BABCOCK AND FOWLER: "ISOFORM-SPECIFIC INTERACTION OF TROPOMODULIN WITH SKELETAL MUSCLE AND ERYTHROCYTE TROPOMYOSINS" JOURNAL OF BIOLOGICAL CHEMISTRY, vol. 269, no. 44, 1994, pages 27510-27518, XP002084566 see the whole document	1-15
Y	LIANG P ET AL: "DIFFERENTIAL DISPLAY OF EUKARYOTIC MESSENGER RNA BY MEANS OF THE POLYMERASE CHAIN REACTION" SCIENCE, vol. 257, no. 5072, 14 August 1992, pages 967-971, XP000508268 cited in the application see the whole document	1-15
A	TANAKA ET AL.: "CONSTRUCTION OF A NORMALIZED DIRECTIONALLY CLONED cDNA LIBRARY FROM ADULT HEART AND ANALYSIS OF 3040 CLONES BY PARTIAL SEQUENCING" GENOMICS, vol. 35, - 1996 pages 231-235, XP002084567 cited in the application see the whole document & DATABASE EMBL EST AC:C04498, 1996 TANAKA ET AL.: "CLONE 3NHC3467"	1-15
A	WO 97 17937 A (FRANZ WOLFGANG M ; ROTHMANN THOMAS (DE); KATUS H A (DE)) 22 May 1997 see the whole document	4, 11, 12
A	NABEL E G: "GENE THERAPY FOR CARDIOVASCULAR DISEASE" CIRCULATION, vol. 91, no. 2, 15 January 1995, pages 541-548, XP000568740 see the whole document	4, 11, 12
A	US 5 283 173 A (SONG OK-KYU ET AL) 1 February 1994 see the whole document	15
	-/--	

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Inte. .onal Application No

PCT/EP 98/03584

C.(Continuation) DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
P, Y	<p>DATABASE EMBL EST AC:AA462137, 13 June 1997 MARRA ET AL.: "THE WASHU-HHMI MOUSE EST PROJECT" XP002084569</p> <p>-----</p>	1-15

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

International Application No

PCT/EP 98/03584

Patent document cited in search report		Publication date	Patent family member(s)	Publication date
WO 9717937	A	22-05-1997	AU 1867297 A EP 0862644 A	05-06-1997 09-09-1998
US 5283173	A	01-02-1994	US 5468614 A US 5667973 A	21-11-1995 16-09-1997

INTERNATIONALER RECHERCHENBERICHT

Internationales Aktenzeichen

PCT/EP 98/03584

A. KLASSIFIZIERUNG DES ANMELDUNGSGEGENSTANDES

IPK 6 C12N15/12 C12N15/85 C07K14/47 C12Q1/68 C07K16/18
G01N33/50 A61K48/00

Nach der internationalen Patentklassifikation (IPK) oder nach der nationalen Klassifikation und der IPK

B. RECHERCHIERTE GEBIETE

Recherchierter Mindestprüfstoff (Klassifikationssystem und Klassifikationssymbole)

IPK 6 C07K

Recherchierte aber nicht zum Mindestprüfstoff gehörende Veröffentlichungen, soweit diese unter die recherchierten Gebiete fallen

Während der internationalen Recherche konsultierte elektronische Datenbank (Name der Datenbank und evtl. verwendete Suchbegriffe)

C. ALS WESENTLICH ANGESEHENE UNTERLAGEN

Kategorie	Bezeichnung der Veröffentlichung, soweit erforderlich unter Angabe der in Betracht kommenden Teile	Betr. Anspruch Nr.
Y	DATABASE EMBL EST AC:W12756, 1996 MARRA ET AL.: "THE WASHU-HHMI MOUSE EST PROJECT" XP002084570	1-15
Y	DATABASE EMBL EST AC:AA249091, 13. März 1997 LIEW: "cDNAs FROM HUMAN FETAL HEART" XP002084571	1-15



Weitere Veröffentlichungen sind der Fortsetzung von Feld C zu entnehmen



Siehe Anhang Patentfamilie

* Besondere Kategorien von angegebenen Veröffentlichungen :

"A" Veröffentlichung, die den allgemeinen Stand der Technik definiert, aber nicht als besonders bedeutsam anzusehen ist

"E" älteres Dokument, das jedoch erst am oder nach dem internationalen Anmeldedatum veröffentlicht worden ist

"L" Veröffentlichung, die geeignet ist, einen Prioritätsanspruch zweifelhaft erscheinen zu lassen, oder durch die das Veröffentlichungsdatum einer anderen im Recherchenbericht genannten Veröffentlichung belegt werden soll oder die aus einem anderen besonderen Grund angegeben ist (wie ausgeführt)

"O" Veröffentlichung, die sich auf eine mündliche Offenbarung, eine Benutzung, eine Ausstellung oder andere Maßnahmen bezieht

"P" Veröffentlichung, die vor dem internationalen Anmeldedatum, aber nach dem beanspruchten Prioritätsdatum veröffentlicht worden ist

"T" Spätere Veröffentlichung, die nach dem internationalen Anmeldedatum oder dem Prioritätsdatum veröffentlicht worden ist und mit der Anmeldung nicht kollidiert, sondern nur zum Verständnis des der Erfindung zugrundeliegenden Prinzips oder der ihr zugrundeliegenden Theorie angegeben ist

"X" Veröffentlichung von besonderer Bedeutung; die beanspruchte Erfindung kann allein aufgrund dieser Veröffentlichung nicht als neu oder auf erfinderischer Tätigkeit beruhend betrachtet werden

"Y" Veröffentlichung von besonderer Bedeutung; die beanspruchte Erfindung kann nicht als auf erfinderischer Tätigkeit beruhend betrachtet werden, wenn die Veröffentlichung mit einer oder mehreren anderen Veröffentlichungen dieser Kategorie in Verbindung gebracht wird und diese Verbindung für einen Fachmann naheliegend ist

"Z" Veröffentlichung, die Mitglied derselben Patentfamilie ist

Datum des Abschlusses der internationalen Recherche

16. November 1998

Absendedatum des internationalen Recherchenberichts

01/12/1998

Name und Postanschrift der internationalen Recherchenbehörde
Europäisches Patentamt, P.B. 5818 Patentlaan 2
NL - 2280 HV Rijswijk
Tel. (+31-70) 340-2040, Tx. 31 651 epo nl,
Fax: (+31-70) 340-3016

Bevollmächtigter Bediensteter

Hagenmaier, S

C.(Fortsetzung) ALS WESENTLICH ANGESEHENE UNTERLAGEN		
Kategorie	Bezeichnung der Veröffentlichung, soweit erforderlich unter Angabe der in Betracht kommenden Teile	Betr. Anspruch Nr.
Y	WATAKABE ET AL.: "N-TROPOMODULIN: A NOVEL ISOFORM OF TROPOMODULIN IDENTIFIED AS THE MAJOR BINDING PROTEIN TO BRAIN TROPOMYOSIN" JOURNAL OF CELL SCIENCE, Bd. 109, 1996, Seiten 2299-2310, XP002084565 siehe das ganze Dokument ---	1-15
Y	BABCOCK AND FOWLER: "ISOFORM-SPECIFIC INTERACTION OF TROPOMODULIN WITH SKELETAL MUSCLE AND ERYTHROCYTE TROPOMYOSINS" JOURNAL OF BIOLOGICAL CHEMISTRY, Bd. 269, Nr. 44, 1994, Seiten 27510-27518, XP002084566 siehe das ganze Dokument ---	1-15
Y	LIANG P ET AL: "DIFFERENTIAL DISPLAY OF EUKARYOTIC MESSENGER RNA BY MEANS OF THE POLYMERASE CHAIN REACTION" SCIENCE, Bd. 257, Nr. 5072, 14. August 1992, Seiten 967-971, XP000508268 in der Anmeldung erwähnt siehe das ganze Dokument ---	1-15
A	TANAKA ET AL.: "CONSTRUCTION OF A NORMALIZED DIRECTIONALLY CLONED cDNA LIBRARY FROM ADULT HEART AND ANALYSIS OF 3040 CLONES BY PARTIAL SEQUENCING" GENOMICS, Bd. 35, - 1996 Seiten 231-235, XP002084567 in der Anmeldung erwähnt siehe das ganze Dokument & DATABASE EMBL EST AC:C04498, 1996 TANAKA ET AL.: "CLONE 3NHC3467" ---	1-15
A	WO 97 17937 A (FRANZ WOLFGANG M ;ROTHMANN THOMAS (DE); KATUS H A (DE)) 22. Mai 1997 siehe das ganze Dokument ---	4,11,12
A	NABEL E G: "GENE THERAPY FOR CARDIOVASCULAR DISEASE" CIRCULATION, Bd. 91, Nr. 2, 15. Januar 1995, Seiten 541-548, XP000568740 siehe das ganze Dokument ---	4,11,12
A	US 5 283 173 A (SONG OK-KYU ET AL) 1. Februar 1994 siehe das ganze Dokument ---	15
	-/--	

INTERNATIONALER RECHERCHENBERICHT

Internationales Aktenzeichen

PCT/EP 98/03584

C.(Fortsetzung) ALS WESENTLICH ANGESEHENE UNTERLAGEN

Kategorie	Bezeichnung der Veröffentlichung, soweit erforderlich unter Angabe der in Betracht kommenden Teile	Betr. Anspruch Nr.
P,Y	<p>DATABASE EMBL EST AC:AA462137, 13. Juni 1997 MARRA ET AL.: "THE WASHU-HHMI MOUSE EST PROJECT" XP002084569</p> <p>-----</p>	1-15

INTERNATIONALER RECHERCHENBERICHT

Angaben zu Veröffentlichungen, die zur selben Patentfamilie gehören

Internationales Aktenzeichen

PCT/EP 98/03584

Im Recherchenbericht angeführtes Patentdokument	Datum der Veröffentlichung	Mitglied(er) der Patentfamilie	Datum der Veröffentlichung
WO 9717937 A	22-05-1997	AU 1867297 A	05-06-1997
		EP 0862644 A	09-09-1998
US 5283173 A	01-02-1994	US 5468614 A	21-11-1995
		US 5667973 A	16-09-1997

PATENT COOPERATION TREATY

PCT

NOTIFICATION OF ELECTION

(PCT Rule 61.2)

From the INTERNATIONAL BUREAU

To:

United States Patent and Trademark
Office
(Box PCT)
Crystal Plaza 2
Washington, DC 20231
ÉTATS-UNIS D'AMÉRIQUE

in its capacity as elected Office

Date of mailing (day/month/year) 10 February 1999 (10.02.99)	
International application No. PCT/EP98/03584	Applicant's or agent's file reference M25519PC /ls
International filing date (day/month/year) 15 June 1998 (15.06.98)	Priority date (day/month/year) 13 June 1997 (13.06.97)
Applicant HOFMANN, Marion, Elke et al	

1. The designated Office is hereby notified of its election made:

☒ in the demand filed with the International Preliminary Examining Authority on:
13 January 1999 (13.01.99)

☐ in a notice effecting later election filed with the International Bureau on:

2. The election ☒ was
☐ was not

made before the expiration of 19 months from the priority date or, where Rule 32 applies, within the time limit under Rule 32.2(b).

The International Bureau of WIPO 34, chemin des Colombettes 1211 Geneva 20, Switzerland	Authorized officer Aino Metcalfe
Facsimile No.: (41-22) 740.14.35	Telephone No.: (41-22) 338.83.38

PATENT COOPERATION TREATY

PCT

From the INTERNATIONAL BUREAU

NOTIFICATION OF THE RECORDING
OF A CHANGE

(PCT Rule 92bis.1 and
Administrative Instructions, Section 422)

To:

BÖSL, Raphael
Galileiplatz 1
D-81679 München
ALLEMAGNE

Date of mailing (day/month/year) 06 January 1999 (06.01.99)	IMPORTANT NOTIFICATION
Applicant's or agent's file reference M25519PC /ls	
International application No. PCT/EP98/03584	International filing date (day/month/year) 15 June 1998 (15.06.98)

1. The following indications appeared on record concerning:		
<input checked="" type="checkbox"/> the applicant	<input checked="" type="checkbox"/> the inventor	<input type="checkbox"/> the agent <input type="checkbox"/> the common representative
Name and Address HENKEL, Thomas Bertelesstrasse 53 D-81479 München Germany	State of Nationality DE	State of Residence DE
	Telephone No.	
	Facsimile No.	
	Teleprinter No.	
2. The International Bureau hereby notifies the applicant that the following change has been recorded concerning:		
<input type="checkbox"/> the person	<input type="checkbox"/> the name	<input checked="" type="checkbox"/> the address <input type="checkbox"/> the nationality <input type="checkbox"/> the residence
Name and Address HENKEL, Thomas Freienfelsstrasse 20A D-81249 München Germany	State of Nationality DE	State of Residence DE
	Telephone No.	
	Facsimile No.	
	Teleprinter No.	
3. Further observations, if necessary:		
4. A copy of this notification has been sent to:		
<input checked="" type="checkbox"/> the receiving Office	<input checked="" type="checkbox"/> the designated Offices concerned	
<input type="checkbox"/> the International Searching Authority	<input type="checkbox"/> the elected Offices concerned	
<input type="checkbox"/> the International Preliminary Examining Authority	<input type="checkbox"/> other:	
The International Bureau of WIPO 34, chemin des Colombettes 1211 Geneva 20, Switzerland Facsimile No.: (41-22) 740.14.35		Authorized officer S. Baharlou Telephone No.: (41-22) 338.83.38

VERTRAG ÜBER DIE INTERNATIONALE ZUSAMMENARBEIT AUF DEM GEBIET DES PATENTWESENS

PCT

REC'D 0 8 SEP 1999

WIPO PCT

INTERNATIONALER VORLÄUFIGER PRÜFUNGSBERICHT

(Artikel 36 und Regel 70 PCT)



Aktenzeichen des Anmelders oder Anwalts M25519PC /ps	WEITERES VORGEHEN siehe Mitteilung über die Übersendung des internationalen vorläufigen Prüfungsbericht (Formblatt PCT/IPEA/416)	
Internationales Aktenzeichen PCT/EP98/03584	Internationales Anmeldedatum (Tag/Monat/Jahr) 15/06/1998	Prioritätsdatum (Tag/Monat/Jahr) 13/06/1997
Internationale Patentklassifikation (IPK) oder nationale Klassifikation und IPK C12N15/12		
Anmelder MEDIGENE AKTIENGESELLSCHAFT		

- Dieser internationale vorläufige Prüfungsbericht wurde von der mit der internationale vorläufigen Prüfung beauftragten Behörde erstellt und wird dem Anmelder gemäß Artikel 36 übermittelt.
- Dieser BERICHT umfaßt insgesamt 5 Blätter einschließlich dieses Deckblatts.

☐ Außerdem liegen dem Bericht ANLAGEN bei; dabei handelt es sich um Blätter mit Beschreibungen, Ansprüchen und/oder Zeichnungen, die geändert wurden und diesem Bericht zugrunde liegen, und/oder Blätter mit von der Behörde vorgenommenen Berichtigungen (siehe Regel 70.16 und Abschnitt 607 der Verwaltungsrichtlinien zum PCT).

 Diese Anlagen umfassen insgesamt Blätter.

- Dieser Bericht enthält Angaben zu folgenden Punkten:
 - ☒ Grundlage des Berichts
 - ☐ Priorität
 - ☐ Keine Erstellung eines Gutachtens über Neuheit, erfinderische Tätigkeit und gewerbliche Anwendbarkeit
 - ☐ Mangelnde Einheitlichkeit der Erfindung
 - ☒ Begründete Feststellung nach Artikel 35(2) hinsichtlich der Neuheit, der erfinderischen Tätigkeit und der gewerblichen Anwendbarkeit; Unterlagen und Erklärungen zur Stützung dieser Feststellung
 - ☐ Bestimmte angeführte Unterlagen
 - ☒ Bestimmte Mängel der internationalen Anmeldung
 - ☐ Bestimmte Bemerkungen zur internationalen Anmeldung

Datum der Einreichung des Antrags 13/01/1999	Datum der Fertigstellung dieses Berichts 0 3. 09. 99
Name und Postanschrift der mit der internationalen vorläufigen Prüfung beauftragten Behörde:  Europäisches Patentamt D-80298 München Tel. +49 89 2399 - 0 Tx: 523656 epmu d Fax: +49 89 2399 - 4465	Bevollmächtigter Bediensteter SCHEFFZYK, I Tel. Nr. +49 89 2399 8602 

INTERNATIONALER VORLÄUFIGER PRÜFUNGSBERICHT

Internationales Aktenzeichen PCT/EP98/03584

I. Grundlage des Berichts

1. Dieser Bericht wurde erstellt auf der Grundlage (*Ersatzblätter, die dem Anmeldeamt auf eine Aufforderung nach Artikel 14 hin vorgelegt wurden, gelten im Rahmen dieses Berichts als "ursprünglich eingereicht" und sind ihm nicht beigefügt, weil sie keine Änderungen enthalten.*):

Beschreibung, Seiten:

1-35 ursprüngliche Fassung

Patentansprüche, Nr.:

1-15 ursprüngliche Fassung

Zeichnungen, Blätter:

1/10-10/10 ursprüngliche Fassung

2. Aufgrund der Änderungen sind folgende Unterlagen fortgefallen:

- ☐ Beschreibung, Seiten:
- ☐ Ansprüche, Nr.:
- ☐ Zeichnungen, Blatt:

3. ☐ Dieser Bericht ist ohne Berücksichtigung (von einigen) der Änderungen erstellt worden, da diese aus den angegebenen Gründen nach Auffassung der Behörde über den Offenbarungsgehalt in der ursprünglich eingereichten Fassung hinausgehen (Regel 70.2(c)):

4. Etwaige zusätzliche Bemerkungen:

V. Begründete Feststellung nach Artikel 35(2) hinsichtlich der Neuheit, der erfinderischen Tätigkeit und der gewerblichen Anwendbarkeit; Unterlagen und Erklärungen zur Stützung dieser Feststellung

1. Feststellung

Neuheit (N)	Ja: Ansprüche	9, 10, 12, 14
	Nein: Ansprüche	1-8, 11, 13, 15
Erfinderische Tätigkeit (ET)	Ja: Ansprüche	
	Nein: Ansprüche	1-15
Gewerbliche Anwendbarkeit (GA)	Ja: Ansprüche	1-15
	Nein: Ansprüche	

2. Unterlagen und Erklärungen

siehe Beiblatt

VII. Bestimmte Mängel der internationalen Anmeldung

Es wurde festgestellt, daß die internationale Anmeldung nach Form oder Inhalt folgende Mängel aufweist:

siehe Beiblatt



SECTION V-----

Neuheit:

Gemäß der auf Seite 6 der vorliegenden Anmeldung gegebenen Definition des Begriffs "funktionelle Variante davon" fallen unter diesen Begriff Polypeptide, die funktionell mit dem erfindungsgemäßen Protein verwandt sind, d.h. ebenso als regulierbare Modulatoren der Kontraktionsfähigkeit von Herzmuskeln bezeichnet werden können oder deren Aktivität durch Tyrosinkinasen reguliert werden kann. Demnach umfasst der Gegenstand der vorliegenden Ansprüche 1-8, 11, 13 und 15 alle bisher bekannten Proteine, die die Kontraktionsfähigkeit von u.a. Herzmuskeln beeinflussen, wie z.B. Tropomodulin. Demgemäß ist z.B. die Entgegenhaltung Babcock and Fowler, Journal of Biological Chemistry, Vol. 269, Nr. 44, 4.11.94, Seiten 27510-27518 (1), worin die Klonierung und Expression von aus Skelettmuskelzellen isoliertes Tropomodulin beschrieben wird, für die oben aufgeführten Ansprüche neuheitsschädlich. Daher erfüllen die Ansprüche 1-8, 11, 13 und 15 nicht die Erfordernisse der Art. 33(2)(3) PCT.

Bezüglich den Ansprüchen 11, 13 und 15 wird die Anmelderin darauf aufmerksam gemacht, daß die Angabe einer Verwendung in einem Stoffanspruch nicht geeignet ist den Schutzzumfang eines solchen Anspruchs zu limitieren, d.h. der Gegenstand eines solchen Anspruchs ist auf den Stoff als solchen gerichtet (vgl. Richtlinien C-III 4.8 PCT).

Vollständigkeitshalber wird zudem festgestellt, dass selbst in Abwesenheits des Begriffs "funktionelle Variante davon" der Gegenstand der Ansprüche 1, 2, 4, 5, 6, 7, 8, 11, 13 und 15 auch nicht als neu betrachtet werden könnte, denn aufgrund der hohen Homologie des erfindungsgemäßen Proteins mit Tropomodulin können Proteine, welche mindestens 6 Aminosäuren der in Fig. 4 gezeigten Sequenz enthalten bzw. Nukleinsäuremoleküle, die mindestens 8 Nukleotide der Nukleinsäuresequenz kodierend für die in Fig. 4 gezeigte Aminosäuresequenz enthalten, nicht als neu betrachtet werden.

Erfinderische Tätigkeit:

Entsprechend kann für den Gegenstand der Ansprüche 9, 10, 12, 14 und 16 keine erfinderische Tätigkeit (Art. 33(3) PCT) anerkannt werden, denn die Herstellung von

Antikörpern, die gegen bekannte Proteine gerichtet sind oder die Verwendung von Stoffen, welche die Kontraktionsfähigkeit von Herzmuskelzellen beeinflussen als Arzneimittel sind für einen Fachmann lediglich naheliegende Ausführungsformen.

SECTION VII-----

Vorliegende Anmeldung erfüllt nicht die Erfordernisse der Regel 5.1a)iv) PCT.

07
Translation

PATENT COOPERATION TREATY

PCT

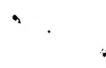
INTERNATIONAL PRELIMINARY EXAMINATION REPORT

(PCT Article 36 and Rule 70)

Applicant's or agent's file reference M25519PC /ls	FOR FURTHER ACTION See Notification of Transmittal of International Preliminary Examination Report (Form PCT/IPEA/416)	
International application No. PCT/EP98/03584	International filing date (day/month/year) 15 June 1998 (15.06.1998)	Priority date (day/month/year) 13 June 1997 (13.06.1997)
International Patent Classification (IPC) or national classification and IPC C12N 15/12		
Applicant MEDIGENE AKTIENGESELLSCHAFT		

1. This international preliminary examination report has been prepared by this International Preliminary Examining Authority and is transmitted to the applicant according to Article 36.	
2. This REPORT consists of a total of <u>5</u> sheets, including this cover sheet.	
<input type="checkbox"/>	This report is also accompanied by ANNEXES, i.e., sheets of the description, claims and/or drawings which have been amended and are the basis for this report and/or sheets containing rectifications made before this Authority (see Rule 70.16 and Section 607 of the Administrative Instructions under the PCT).
These annexes consist of a total of _____ sheets.	
3. This report contains indications relating to the following items:	
I <input checked="" type="checkbox"/>	Basis of the report
II <input type="checkbox"/>	Priority
III <input type="checkbox"/>	Non-establishment of opinion with regard to novelty, inventive step and industrial applicability
IV <input type="checkbox"/>	Lack of unity of invention
V <input checked="" type="checkbox"/>	Reasoned statement under Article 35(2) with regard to novelty, inventive step or industrial applicability; citations and explanations supporting such statement
VI <input type="checkbox"/>	Certain documents cited
VII <input checked="" type="checkbox"/>	Certain defects in the international application
VIII <input type="checkbox"/>	Certain observations on the international application

Date of submission of the demand 13 January 1999 (13.01.1999)	Date of completion of this report 03 September 1999 (03.09.1999)
Name and mailing address of the IPEA/EP European Patent Office D-80298 Munich, Germany Facsimile No. 49-89-2399-4465	Authorized officer Telephone No. 49-89-2399-0



INTERNATIONAL PRELIMINARY EXAMINATION REPORT

International application No.

PCT/EP98/03584

I. Basis of the report

1. This report has been drawn on the basis of *(Replacement sheets which have been furnished to the receiving Office in response to an invitation under Article 14 are referred to in this report as "originally filed" and are not annexed to the report since they do not contain amendments.)*:

- ☐ the international application as originally filed.
- ☒ the description, pages 1-35, as originally filed,
 pages _____, filed with the demand,
 pages _____, filed with the letter of _____,
 pages _____, filed with the letter of _____.
- ☒ the claims, Nos. 1-15, as originally filed,
 Nos. _____, as amended under Article 19,
 Nos. _____, filed with the demand,
 Nos. _____, filed with the letter of _____,
 Nos. _____, filed with the letter of _____.
- ☒ the drawings, sheets/fig 1/10-10/10, as originally filed,
 sheets/fig _____, filed with the demand,
 sheets/fig _____, filed with the letter of _____,
 sheets/fig _____, filed with the letter of _____.

2. The amendments have resulted in the cancellation of:

- ☐ the description, pages _____
- ☐ the claims, Nos. _____
- ☐ the drawings, sheets/fig _____

3. ☐ This report has been established as if (some of) the amendments had not been made, since they have been considered to go beyond the disclosure as filed, as indicated in the Supplemental Box (Rule 70.2(c)).

4. Additional observations, if necessary:



INTERNATIONAL PRELIMINARY EXAMINATION REPORT

International application No.

PCT/EP 98/03584

V. Reasoned statement under Article 35(2) with regard to novelty, inventive step or industrial applicability; citations and explanations supporting such statement**1. Statement**

Novelty (N)	Claims	9, 10, 12, 14	YES
	Claims	1-8, 11, 13, 15	NO
Inventive step (IS)	Claims		YES
	Claims	1-15	NO
Industrial applicability (IA)	Claims	1-15	YES
	Claims		NO

2. Citations and explanations**Novelty:**

According to the definition of the expression "functional variants thereof" given on page 6 of the present application, this expression covers polypeptides which are functionally related to the protein according to the invention, that is, which can also be designated as regulatable modulators of the contractibility of heart muscles or the activity of which can be regulated by tyrosine kinases. Consequently, the subject matter of present Claims 1-8, 11, 13 and 15 includes all the previously known proteins which influence, *inter alia*, heart muscle contractibility, such as, for example, tropomodulin. The cited article by Babcock and Fowler, Journal of Biological Chemistry, Vol. 269, No. 44, 4 November 1994, pages 27510-27518 (1), which describes the cloning and expression of tropomodulin isolated from skeletal muscle cells, is therefore prejudicial to the novelty of the above-mentioned claims. Consequently, Claims 1-8, 11, 13 and 15 do not meet the requirements of PCT Article 33(2) and (3).

Regarding Claims 11, 13 and 15, the applicants are requested to note that a use indication in a substance

claim is not suitable for limiting the scope of protection of such a claim, that is, the subject matter of such a claim is directed to the substance itself (cf. PCT Guidelines, Chapter III, 4.8).

For the sake of completeness, it is also pointed out that even in the absence of the expression "functional variants thereof", the subject matter of Claims 1, 2, 4, 5, 6, 7, 8, 11, 13 and 15 cannot be considered novel either, because the high degree of homology of the claimed protein with tropomodulin anticipates proteins containing at least 6 amino acids having the sequence depicted in Fig. 4 or nucleic acid molecules containing at least 8 nucleotides of the nucleic acid sequence coding for the amino acid sequence depicted in Fig. 4 in a manner prejudicial to novelty.

Inventive step:

Accordingly, an inventive step (PCT Article 33(3)) cannot be recognised for the subject matter of Claims 9, 10, 12, 14 and 16 because the production of antibodies directed against known proteins or the use of substances that influence heart muscle cell contractibility as medicaments are merely obvious configurations to a person skilled in the art.

INTERNATIONAL PRELIMINARY EXAMINATION REPORT

International application No.

PCT/EP 98/03584

VII. Certain defects in the international application

The following defects in the form or contents of the international application have been noted:

The present application does not meet the requirements of
PCT Rule 5.1(a)(iv).

PCT

ANTRAG

Der Unterzeichnete beantragt, daß die vorliegende internationale Anmeldung nach dem Vertrag über die internationale Zusammenarbeit auf dem Gebiet des Patentwesens behandelt wird.

Vom Anmeldeamt auszufüllen

Internationales Aktenzeichen

Internationales Anmeldedatum

Name des Anmeldeamts und "PCT International Application"

Aktenzeichen des Anmelders oder Anwalts (falls gewünscht)
(max. 12 Zeichen) M25519PC /1s

Feld Nr. I BEZEICHNUNG DER ERFINDUNG

Herz- und Skelettmuskel-spezifische Nukleinsäure, ihre Herstellung und Verwendung

Feld Nr. II ANMELDER

Name und Anschrift: (Familienname, Vorname; bei juristischen Personen vollständige amtliche Bezeichnung. Bei der Anschrift sind die Postleitzahl und der Name des Staats anzugeben. Der in diesem Feld in der Anschrift angegebene Staat ist der Staat des Sitzes oder Wohnsitzes des Anmelders, sofern nachstehend kein Staat des Sitzes oder Wohnsitzes angegeben ist.)

MediGene Aktiengesellschaft
Lochhamer Straße 11
D-82152 Martinsried

☐ Diese Person ist gleichzeitig Erfinder

Telefonnr.:

Telefaxnr.:

Fernschreibnr.:

Staatsangehörigkeit (Staat):

DE

Sitz oder Wohnsitz (Staat):

DE

Diese Person ist Anmelder für folgende Staaten:

☐ alle Bestimmungsstaaten

☒ alle Bestimmungsstaaten mit Ausnahme der Vereinigten Staaten von Amerika

☐ nur die Vereinigten Staaten von Amerika

☐ die im Zusatzfeld angegebenen Staaten

Feld Nr. III WEITERE ANMELDER UND/ODER (WEITERE) ERFINDER

Name und Anschrift: (Familienname, Vorname; bei juristischen Personen vollständige amtliche Bezeichnung. Bei der Anschrift sind die Postleitzahl und der Name des Staats anzugeben. Der in diesem Feld in der Anschrift angegebene Staat ist der Staat des Sitzes oder Wohnsitzes des Anmelders, sofern nachstehend kein Staat des Sitzes oder Wohnsitzes angegeben ist.)

HOFMANN, Marion Elke
Albrecht-Dürer-Str. 16
D-82152 Krailling

Diese Person ist:

☐ nur Anmelder

☒ Anmelder und Erfinder

☐ nur Erfinder (Wird dieses Kästchen angekreuzt, so sind die nachstehenden Angaben nicht nötig.)

Staatsangehörigkeit (Staat):

DE

Sitz oder Wohnsitz (Staat):

DE

Diese Person ist Anmelder für folgende Staaten:

☐ alle Bestimmungsstaaten

☐ alle Bestimmungsstaaten mit Ausnahme der Vereinigten Staaten von Amerika

☒ nur die Vereinigten Staaten von Amerika

☐ die im Zusatzfeld angegebenen Staaten

☐ Weitere Anmelder und/oder (weitere) Erfinder sind auf einem Fortsetzungsblatt angegeben.

Feld Nr. IV ANWALT ODER GEMEINSAMER VERTRETER; ZUSTELLANSCHRIFT

Die folgende Person wird hiermit bestellt/ist bestellt worden, um für den (die) Anmelder vor den zuständigen internationalen Behörden in folgender Eigenschaft zu handeln als:

☒ Anwalt

☐ gemeinsamer Vertreter

Name und Anschrift: (Familienname, Vorname; bei juristischen Personen vollständige amtliche Bezeichnung. Bei der Anschrift sind die Postleitzahl und der Name des Staats anzugeben.)

BÖSL, Raphael ROST, Jürgen Galileiplatz 1
BARDEHLE, Heinz DEHMELE, Albrecht D-81679 München
DOST, Wolfgang KÄHLHÖFER, Hermann
ALTENBURG, Udo PAGENBERG, Jochen
GEISSLER, Bernhard ISENBRUCK, Günther

Telefonnr.:

0049-98-928050

Telefaxnr.:

Fernschreibnr.:

0049-89-92805444

☐ Dieses Kästchen ist anzukreuzen, wenn kein Anwalt oder gemeinsamer Vertreter bestellt ist und statt dessen im obigen Feld eine spezielle Zustellanschrift angegeben ist.

.

.

.

.

.

.

.

Fortsetzung von Feld Nr. III WEITERE ANMELDER UND/ODER (WEITERE) ERFINDER

Wird keines der folgenden Felder benutzt, so ist dieses Blatt dem Antrag nicht beizufügen.

Name und Anschrift: (Familienname, Vorname; bei juristischen Personen vollständige amtliche Bezeichnung. Bei der Anschrift sind die Postleitzahl und der Name des Staats anzugeben. Der in diesem Feld in der Anschrift angegebene Staat ist der Staat des Sitzes oder Wohnsitzes des Anmelders, sofern nachstehend kein Staat des Sitzes oder Wohnsitzes angegeben ist.)

DOMDEY, Horst
Fasanenweg 6
D-82061 Neuried

Diese Person ist:

☐ nur Anmelder

☒ Anmelder und Erfinder

☐ nur Erfinder (Wird dieses Kästchen angekreuzt, so sind die nachstehenden Angaben nicht nötig.)

Staatsangehörigkeit (Staat):

DE

Sitz oder Wohnsitz (Staat):

DE

Diese Person ist Anmelder für folgende Staaten:

☐ alle Bestimmungsstaaten

☐ alle Bestimmungsstaaten mit Ausnahme der Vereinigten Staaten von Amerika

☒ nur die Vereinigten Staaten von Amerika

☐ die im Zusatzfeld angegebenen Staaten

Name und Anschrift: (Familienname, Vorname; bei juristischen Personen vollständige amtliche Bezeichnung. Bei der Anschrift sind die Postleitzahl und der Name des Staats anzugeben. Der in diesem Feld in der Anschrift angegebene Staat ist der Staat des Sitzes oder Wohnsitzes des Anmelders, sofern nachstehend kein Staat des Sitzes oder Wohnsitzes angegeben ist.)

HENKEL, Thomas
Bertelestr. 53
D-81479 München

Diese Person ist:

☐ nur Anmelder

☒ Anmelder und Erfinder

☐ nur Erfinder (Wird dieses Kästchen angekreuzt, so sind die nachstehenden Angaben nicht nötig.)

Staatsangehörigkeit (Staat):

DE

Sitz oder Wohnsitz (Staat):

DE

Diese Person ist Anmelder für folgende Staaten:

☐ alle Bestimmungsstaaten

☐ alle Bestimmungsstaaten mit Ausnahme der Vereinigten Staaten von Amerika

☒ nur die Vereinigten Staaten von Amerika

☐ die im Zusatzfeld angegebenen Staaten

Name und Anschrift: (Familienname, Vorname; bei juristischen Personen vollständige amtliche Bezeichnung. Bei der Anschrift sind die Postleitzahl und der Name des Staats anzugeben. Der in diesem Feld in der Anschrift angegebene Staat ist der Staat des Sitzes oder Wohnsitzes des Anmelders, sofern nachstehend kein Staat des Sitzes oder Wohnsitzes angegeben ist.)

Diese Person ist:

☐ nur Anmelder

☐ Anmelder und Erfinder

☐ nur Erfinder (Wird dieses Kästchen angekreuzt, so sind die nachstehenden Angaben nicht nötig.)

Staatsangehörigkeit (Staat):

Sitz oder Wohnsitz (Staat):

Diese Person ist Anmelder für folgende Staaten:

☐ alle Bestimmungsstaaten

☐ alle Bestimmungsstaaten mit Ausnahme der Vereinigten Staaten von Amerika

☐ nur die Vereinigten Staaten von Amerika

☐ die im Zusatzfeld angegebenen Staaten

Name und Anschrift: (Familienname, Vorname; bei juristischen Personen vollständige amtliche Bezeichnung. Bei der Anschrift sind die Postleitzahl und der Name des Staats anzugeben. Der in diesem Feld in der Anschrift angegebene Staat ist der Staat des Sitzes oder Wohnsitzes des Anmelders, sofern nachstehend kein Staat des Sitzes oder Wohnsitzes angegeben ist.)

Diese Person ist:

☐ nur Anmelder

☐ Anmelder und Erfinder

☐ nur Erfinder (Wird dieses Kästchen angekreuzt, so sind die nachstehenden Angaben nicht nötig.)

Staatsangehörigkeit (Staat):

Sitz oder Wohnsitz (Staat):

Diese Person ist Anmelder für folgende Staaten:

☐ alle Bestimmungsstaaten

☐ alle Bestimmungsstaaten mit Ausnahme der Vereinigten Staaten von Amerika

☐ nur die Vereinigten Staaten von Amerika

☐ die im Zusatzfeld angegebenen Staaten

☐ Weitere Anmelder und/oder (weitere) Erfinder sind auf einem zusätzlichen Fortsetzungsblatt angegeben.

Feld Nr. V BESTIMMUNG VON STAATEN

Die folgenden Bestimmungen nach Regel 4.9 Absatz a werden hiermit vorgenommen (bitte die entsprechenden Kästchen ankreuzen; wenigstens ein Kästchen muß angekreuzt werden):

Regionales Patent

- ☐ **AP ARIPO-Patent:** GH Ghana, GM Gambia, KE Kenia, LS Lesotho, MW Malawi, SD Sudan, SZ Swasiland, UG Uganda, ZW Simbabwe und jeder weitere Staat, der Vertragsstaat des Harare-Protokolls und des PCT ist
- ☐ **EA Eurasisches Patent:** AM Armenien, AZ Aserbaidshan, BY Belarus, KG Kirgisistan, KZ Kasachstan, MD Republik Moldau, RU Russische Föderation, TJ Tadschikistan, TM Turkmenistan und jeder weitere Staat, der Vertragsstaat des Eurasischen Patentübereinkommens und des PCT ist
- ☒ **EP Europäisches Patent:** AT Österreich, BE Belgien, CH und LI Schweiz und Liechtenstein, DE Deutschland, DK Dänemark, ES Spanien, FI Finnland, FR Frankreich, GB Vereinigtes Königreich, GR Griechenland, IE Irland, IT Italien, LU Luxemburg, MC Monaco, NL Niederlande, PT Portugal, SE Schweden und jeder weitere Staat, der Vertragsstaat des Europäischen Patentübereinkommens und des PCT ist
- ☐ **OA OAPI-Patent:** BF Burkina Faso, BJ Benin, CF Zentralafrikanische Republik, CG Kongo, CI Côte d'Ivoire, CM Kamerun, GA Gabun, GN Guinea, ML Mali, MR Mauretanien, NE Niger, SN Senegal, TD Tschad, TG Togo und jeder weitere Staat, der Vertragsstaat der OAPI und des PCT ist (falls eine andere Schutzrechtsart oder ein sonstiges Verfahren gewünscht wird, bitte auf der gepunkteten Linie angeben)

Nationales Patent (falls eine andere Schutzrechtsart oder ein sonstiges Verfahren gewünscht wird, bitte auf der gepunkteten Linie angeben):

- | | |
|---|--|
| <input type="checkbox"/> AL Albanien | <input type="checkbox"/> LT Litauen |
| <input type="checkbox"/> AM Armenien | <input type="checkbox"/> LU Luxemburg |
| <input type="checkbox"/> AT Österreich | <input type="checkbox"/> LV Lettland |
| <input checked="" type="checkbox"/> AU Australien | <input type="checkbox"/> MD Republik Moldau |
| <input type="checkbox"/> AZ Aserbaidshan | <input type="checkbox"/> MG Madagaskar |
| <input type="checkbox"/> BA Bosnien-Herzegowina | <input type="checkbox"/> MK Die ehemalige jugoslawische Republik
Mazedonien |
| <input type="checkbox"/> BB Barbados | <input type="checkbox"/> MN Mongolei |
| <input type="checkbox"/> BG Bulgarien | <input type="checkbox"/> MW Malawi |
| <input type="checkbox"/> BR Brasilien | <input type="checkbox"/> MX Mexiko |
| <input type="checkbox"/> BY Belarus | <input type="checkbox"/> NO Norwegen |
| <input checked="" type="checkbox"/> CA Kanada | <input type="checkbox"/> NZ Neuseeland |
| <input type="checkbox"/> CH und LI Schweiz und Liechtenstein | <input type="checkbox"/> PL Polen |
| <input type="checkbox"/> CN China | <input type="checkbox"/> PT Portugal |
| <input type="checkbox"/> CU Kuba | <input type="checkbox"/> RO Rumänien |
| <input type="checkbox"/> CZ Tschechische Republik | <input type="checkbox"/> RU Russische Föderation |
| <input type="checkbox"/> DE Deutschland | <input type="checkbox"/> SD Sudan |
| <input type="checkbox"/> DK Dänemark | <input type="checkbox"/> SE Schweden |
| <input type="checkbox"/> EE Estland | <input type="checkbox"/> SG Singapur |
| <input type="checkbox"/> ES Spanien | <input type="checkbox"/> SI Slowenien |
| <input type="checkbox"/> FI Finnland | <input type="checkbox"/> SK Slowakei |
| <input type="checkbox"/> GB Vereinigtes Königreich | <input type="checkbox"/> SL Sierra Leone |
| <input type="checkbox"/> GE Georgien | <input type="checkbox"/> TJ Tadschikistan |
| <input type="checkbox"/> GH Ghana | <input type="checkbox"/> TM Turkmenistan |
| <input type="checkbox"/> GM Gambia | <input type="checkbox"/> TR Türkei |
| <input type="checkbox"/> GW Guinea-Bissau | <input type="checkbox"/> TT Trinidad und Tobago |
| <input type="checkbox"/> HU Ungarn | <input type="checkbox"/> UA Ukraine |
| <input type="checkbox"/> ID Indonesien | <input type="checkbox"/> UG Uganda |
| <input type="checkbox"/> IL Israel | <input checked="" type="checkbox"/> US Vereinigte Staaten von Amerika |
| <input type="checkbox"/> IS Island | <input type="checkbox"/> UZ Usbekistan |
| <input checked="" type="checkbox"/> JP Japan | <input type="checkbox"/> VN Vietnam |
| <input type="checkbox"/> KE Kenia | <input type="checkbox"/> YU Jugoslawien |
| <input type="checkbox"/> KG Kirgisistan | <input type="checkbox"/> ZW Simbabwe |
| <input type="checkbox"/> KP Demokratische Volksrepublik Korea | |
| <input type="checkbox"/> KR Republik Korea | |
| <input type="checkbox"/> KZ Kasachstan | |
| <input type="checkbox"/> LC Saint Lucia | |
| <input type="checkbox"/> LK Sri Lanka | |
| <input type="checkbox"/> LR Liberia | |
| <input type="checkbox"/> LS Lesotho | |

Kästchen für die Bestimmung von Staaten (für die Zwecke eines nationalen Patents), die dem PCT nach der Veröffentlichung dieses Formblatts beigetreten sind:

Zusätzlich zu den oben genannten Bestimmungen nimmt der Anmelder nach Regel 4.9 Absatz b auch alle anderen nach dem PCT zulässigen Bestimmungen vor mit Ausnahme der Bestimmung von

Der Anmelder erklärt, daß diese zusätzlichen Bestimmungen unter dem Vorbehalt einer Bestätigung stehen und jede zusätzliche Bestimmung, die vor Ablauf von 15 Monaten ab dem Prioritätsdatum nicht bestätigt wurde, nach Ablauf dieser Frist als vom Anmelder zurückgenommen gilt. (Die Bestätigung einer Bestimmung erfolgt durch die Einreichung einer Mitteilung, in der diese Bestimmung angegeben wird, und die Zahlung der Bestätigungs- und der Bestätigungsgebühr. Die Bestätigung muß beim Anmeldeamt innerhalb der Frist von 15 Monaten eingehten.)

Feld Nr. VI PRIORITÄTSANSPRUCHWeitere Prioritätsansprüche sind im Zusatzfeld angegeben. ☐

Die Priorität der folgenden früheren Anmeldung(en) wird hiermit beansprucht:

Staat (Anmelde- oder Bestimmungsstaat der Anmeldung)	Anmeldedatum (Tag/Monat/Jahr)	Aktenzeichen	Anmeldeamt (nur bei regionaler oder internationaler Anmeldung)
(1) DE	(13-06-1997) 13. Juni 1997	197 25 186.2	
(2)			
(3)			

Dieses Kästchen ankreuzen, wenn die beglaubigte Kopie der früheren Anmeldung von dem Amt ausgestellt werden soll, das für die Zwecke dieser internationalen Anmeldung Anmeldeamt ist (eine Gebühr kann verlangt werden):

☐ Das Anmeldeamt wird hiermit ersucht, eine beglaubigte Abschrift der oben in Zeile(n) _____ bezeichneten früheren Anmeldung(en) zu erstellen und dem Internationalen Büro zu übermitteln.
Feld Nr. VII INTERNATIONALE RECHERCHENBEHÖRDE

Wahl der Internationalen Recherchenbehörde (ISA) (Sind zwei oder mehr Internationale Recherchenbehörden für die internationale Recherche zuständig, ist der Name der Behörde anzugeben, die die internationale Recherche durchführen soll; Zweibuchstaben-Code genügt):

ISA /

Frühere Recherche: Auszufüllen, wenn eine Recherche (internationale Recherche, Recherche internationaler Art oder sonstige Recherche) bereits bei der internationalen Recherchenbehörde beantragt oder von ihr durchgeführt worden ist und diese Behörde nun ersucht wird, die internationale Recherche soweit wie möglich auf die Ergebnisse einer solchen früheren Recherche zu stützen. Die Recherche oder der Recherchenantrag ist durch Angabe der betreffenden Anmeldung (bzw. deren Übersetzung) oder des Recherchenantrags zu bezeichnen.

Staat (oder regionales Amt):

Datum (Tag/Monat/Jahr):

Aktenzeichen:

Feld Nr. VIII KONTROLLISTE

Diese internationale Anmeldung umfaßt:

- | | | |
|--------------------|-------------|----------------|
| 1. Antrag | : 4 | Blätter |
| 2. Beschreibung | : 34 | Blätter |
| 3. Ansprüche | : 4 | Blätter |
| 4. Zusammenfassung | : 1 | Blätter |
| 5. Zeichnungen | : 10 | Blätter |
| Insgesamt | : 53 | Blätter |

Dieser internationalen Anmeldung liegen die nachstehend angekreuzten Unterlagen bei:

- | | |
|---|---|
| 1. <input type="checkbox"/> Unterzeichnete gesonderte Vollmacht | 5. <input checked="" type="checkbox"/> Blatt für die Gebührenberechnung |
| 2. <input type="checkbox"/> Kopie der allgemeinen Vollmacht | 6. <input type="checkbox"/> Gesonderte Angaben zu hinterlegten Mikroorganismen |
| 3. <input type="checkbox"/> Begründung für das Fehlen der Unterschrift | 7. <input checked="" type="checkbox"/> Sequenzprotokolle für Nucleotide und/oder Aminosäuren (Diskette) |
| 4. <input type="checkbox"/> Prioritätsbeleg(e) (durch die Zeilennummer von Feld Nr. VI kennzeichnen): | 8. <input checked="" type="checkbox"/> Sonstige (einzeln auflisten): |
- Scheck Nr. 3981718

Abbildung Nr. _____ der Zeichnungen (falls vorhanden) soll mit der Zusammenfassung veröffentlicht werden.

Feld Nr. IX UNTERSCHRIFT DES ANMELDERS ODER DES ANWALTS

Der Name jeder unterzeichnenden Person ist neben der Unterschrift zu wiederholen, und es ist anzugeben, sofern sich dies nicht eindeutig aus dem Antrag ergibt, in welcher Eigenschaft die Person unterzeichnet.

R. Bösl

Dr. Raphael Bösl, Patentanwalt

Vom Anmeldeamt auszufüllen

1. Datum des tatsächlichen Eingangs dieser internationalen Anmeldung:	2. Zeichnungen <input type="checkbox"/> eingegangen: <input type="checkbox"/> nicht eingegangen:
3. Geändertes Eingangsdatum aufgrund nachträglich, jedoch fristgerecht eingegangener Unterlagen oder Zeichnungen zur Vervollständigung dieser internationalen Anmeldung:	
4. Datum des fristgerechten Eingangs der angeforderten Richtigstellungen nach Artikel 11(2) PCT:	
5. Vom Anmelder benannte Internationale Recherchenbehörde: ISA /	6. <input type="checkbox"/> Übermittlung des Recherchenexemplars bis zur Zahlung der Recherchegebühr aufgeschoben

Vom Internationalen Büro auszufüllen

Datum des Eingangs des Aktenexemplars beim Internationalen Büro:



VERTRAG ÜBER DIE INTERNATIONALE ZUSAMMENARBEIT
AUF DEM GEBIET DES PATENTWESENS

PCT

INTERNATIONALER RECHERCHENBERICHT

(Artikel 18 sowie Regeln 43 und 44 PCT)

09/445362

Aktenzeichen des Anmelders oder Anwalts M25519PC /1s	WEITERES VORGEHEN siehe Mitteilung über die Übermittlung des internationalen Recherchenberichts (Formblatt PCT/ISA/220) sowie, soweit zutreffend, nachstehender Punkt 5
Internationales Aktenzeichen PCT/EP 98/ 03584	Internationales Anmeldedatum (Tag/Monat/Jahr) 15/06/1998
(Frühestes) Prioritätsdatum (Tag/Monat/Jahr) 13/06/1997	
Anmelder MEDIGENE AKTIENGESELLSCHAFT et al.	

Dieser internationale Recherchenbericht wurde von der Internationalen Recherchenbehörde erstellt und wird dem Anmelder gemäß Artikel 18 übermittelt. Eine Kopie wird dem Internationalen Büro übermittelt.

Dieser internationale Recherchenbericht umfaßt insgesamt 4 Blätter.

☒ Darüber hinaus liegt ihm jeweils eine Kopie der in diesem Bericht genannten Unterlagen zum Stand der Technik bei.

- ☐ Bestimmte Ansprüche haben sich als nichtrecherchierbar erwiesen (siehe Feld I).
- ☐ Mangelnde Einheitlichkeit der Erfindung (siehe Feld II).
- ☒ In der internationalen Anmeldung ist ein Protokoll einer Nucleotid- und/oder Aminosäuresequenz offenbart; die internationale Recherche wurde auf der Grundlage des Sequenzprotokolls durchgeführt,
 - ☒ das zusammen mit der internationalen Anmeldung eingereicht wurde.
 - ☐ das vom Anmelder getrennt von der internationalen Anmeldung vorgelegt wurde,
 - ☐ dem jedoch keine Erklärung beigelegt war, daß der Inhalt des Protokolls nicht über den Offenbarungsgehalt der internationalen Anmeldung in der eingereichten Fassung hinausgeht.
 - ☐ das von der Internationalen Recherchenbehörde in die ordnungsgemäße Form übertragen wurde.
- Hinsichtlich der **Bezeichnung der Erfindung**
 - ☒ wird der vom Anmelder eingereichte Wortlaut genehmigt.
 - ☐ wurde der Wortlaut von der Behörde wie folgt festgesetzt.
- Hinsichtlich der **Zusammenfassung**
 - ☒ wird der vom Anmelder eingereichte Wortlaut genehmigt.
 - ☐ wurde der Wortlaut nach Regel 38.2b) in der Feld III angegebenen Fassung von dieser Behörde festgesetzt. Der Anmelder kann der Internationalen Recherchenbehörde innerhalb eines Monats nach dem Datum der Absendung dieses internationalen Recherchenberichts eine Stellungnahme vorlegen.
- Folgende Abbildung der **Zeichnungen** ist mit der Zusammenfassung zu veröffentlichen:

Abb. Nr. _____	<input type="checkbox"/> wie vom Anmelder vorgeschlagen	<input checked="" type="checkbox"/> keine der Abb.
	<input type="checkbox"/> weil der Anmelder selbst keine Abbildung vorgeschlagen hat.	
	<input type="checkbox"/> weil diese Abbildung die Erfindung besser kennzeichnet.	

A. KLASSIFIZIERUNG DES ANMELDUNGSGEGENSTANDES

IPK 6 C12N15/12 C12N15/85 C07K14/47 C12Q1/68 C07K16/18
G01N33/50 A61K48/00

Nach der Internationalen Patentklassifikation (IPK) oder nach der nationalen Klassifikation und der IPK

B. RECHERCHIERTE GEBIETE

Recherchierter Mindestprüfstoff (Klassifikationssystem und Klassifikationssymbole)

IPK 6 C07K

Recherchierte aber nicht zum Mindestprüfstoff gehörende Veröffentlichungen, soweit diese unter die recherchierten Gebiete fallen

Während der internationalen Recherche konsultierte elektronische Datenbank (Name der Datenbank und evtl. verwendete Suchbegriffe)

C. ALS WESENTLICH ANGESEHENE UNTERLAGEN

Kategorie°	Bezeichnung der Veröffentlichung, soweit erforderlich unter Angabe der in Betracht kommenden Teile	Betr. Anspruch Nr.
Y	<p>DATABASE EMBL EST AC:W12756, 1996 MARRA ET AL.: "THE WASHU-HHMI MOUSE EST PROJECT" XP002084570</p> <p>---</p>	1-15
Y	<p>DATABASE EMBL EST AC:AA249091, 13. März 1997 LIEW: "cDNAs FROM HUMAN FETAL HEART" XP002084571</p> <p>---</p> <p>-/--</p>	1-15



Weitere Veröffentlichungen sind der Fortsetzung von Feld C zu entnehmen



Siehe Anhang Patentfamilie

° Besondere Kategorien von angegebenen Veröffentlichungen :

"A" Veröffentlichung, die den allgemeinen Stand der Technik definiert, aber nicht als besonders bedeutsam anzusehen ist

"E" älteres Dokument, das jedoch erst am oder nach dem internationalen Anmeldedatum veröffentlicht worden ist

"L" Veröffentlichung, die geeignet ist, einen Prioritätsanspruch zweifelhaft erscheinen zu lassen, oder durch die das Veröffentlichungsdatum einer anderen im Recherchenbericht genannten Veröffentlichung belegt werden soll oder die aus einem anderen besonderen Grund angegeben ist (wie ausgeführt)

"O" Veröffentlichung, die sich auf eine mündliche Offenbarung, eine Benutzung, eine Ausstellung oder andere Maßnahmen bezieht

"P" Veröffentlichung, die vor dem internationalen Anmeldedatum, aber nach dem beanspruchten Prioritätsdatum veröffentlicht worden ist

"T" Spätere Veröffentlichung, die nach dem internationalen Anmeldedatum oder dem Prioritätsdatum veröffentlicht worden ist und mit der Anmeldung nicht kollidiert, sondern nur zum Verständnis des der Erfindung zugrundeliegenden Prinzips oder der ihr zugrundeliegenden Theorie angegeben ist

"X" Veröffentlichung von besonderer Bedeutung; die beanspruchte Erfindung kann allein aufgrund dieser Veröffentlichung nicht als neu oder auf erfinderischer Tätigkeit beruhend betrachtet werden

"Y" Veröffentlichung von besonderer Bedeutung; die beanspruchte Erfindung kann nicht als auf erfinderischer Tätigkeit beruhend betrachtet werden, wenn die Veröffentlichung mit einer oder mehreren anderen Veröffentlichungen dieser Kategorie in Verbindung gebracht wird und diese Verbindung für einen Fachmann naheliegend ist

"&" Veröffentlichung, die Mitglied derselben Patentfamilie ist

Datum des Abschlusses der internationalen Recherche

16. November 1998

Absenddatum des internationalen Recherchenberichts

01/12/1998

Name und Postanschrift der Internationalen Recherchenbehörde
Europäisches Patentamt, P.B. 5818 Patentlaan 2
NL - 2280 HV Rijswijk
Tel. (+31-70) 340-2040, Tx. 31 651 epo nl,
Fax: (+31-70) 340-3016

Bevollmächtigter Bediensteter

Hagenmaier, S

C.(Fortsetzung) ALS WESENTLICH ANGESEHENE UNTERLAGEN

Kategorie°	Bezeichnung der Veröffentlichung, soweit erforderlich unter Angabe der in Betracht kommenden Teile	Betr. Anspruch Nr.
Y	WATAKABE ET AL.: "N-TROPOMODULIN: A NOVEL ISOFORM OF TROPOMODULIN IDENTIFIED AS THE MAJOR BINDING PROTEIN TO BRAIN TROPOMYOSIN" JOURNAL OF CELL SCIENCE, Bd. 109, 1996, Seiten 2299-2310, XP002084565 siehe das ganze Dokument ---	1-15
Y	BABCOCK AND FOWLER: "ISOFORM-SPECIFIC INTERACTION OF TROPOMODULIN WITH SKELETAL MUSCLE AND ERYTHROCYTE TROPOMYOSINS" JOURNAL OF BIOLOGICAL CHEMISTRY, Bd. 269, Nr. 44, 1994, Seiten 27510-27518, XP002084566 siehe das ganze Dokument ---	1-15
Y	LIANG P ET AL: "DIFFERENTIAL DISPLAY OF EUKARYOTIC MESSENGER RNA BY MEANS OF THE POLYMERASE CHAIN REACTION" SCIENCE, Bd. 257, Nr. 5072, 14. August 1992, Seiten 967-971, XP000508268 in der Anmeldung erwähnt siehe das ganze Dokument ---	1-15
A	TANAKA ET AL.: "CONSTRUCTION OF A NORMALIZED DIRECTIONALLY CLONED cDNA LIBRARY FROM ADULT HEART AND ANALYSIS OF 3040 CLONES BY PARTIAL SEQUENCING" GENOMICS, Bd. 35, - 1996 Seiten 231-235, XP002084567 in der Anmeldung erwähnt siehe das ganze Dokument & DATABASE EMBL EST AC:C04498, 1996 TANAKA ET AL.: "CLONE 3NHC3467" ---	1-15
A	WO 97 17937 A (FRANZ WOLFGANG M ;ROTHMANN THOMAS (DE); KATUS H A (DE)) 22. Mai 1997 siehe das ganze Dokument ---	4,11,12
A	NABEL E G: "GENE THERAPY FOR CARDIOVASCULAR DISEASE". CIRCULATION, Bd. 91, Nr. 2, 15. Januar 1995, Seiten 541-548, XP000568740 siehe das ganze Dokument ---	4,11,12
A	US 5 283 173 A (SONG OK-KYU ET AL) 1. Februar 1994 siehe das ganze Dokument ---	15

-/--

C.(Fortsetzung) ALS WESENTLICH ANGESEHENE UNTERLAGEN

Kategorie°	Bezeichnung der Veröffentlichung, soweit erforderlich unter Angabe der in Betracht kommenden Teile	Betr. Anspruch Nr.
P,Y	DATABASE EMBL EST AC:AA462137, 13. Juni 1997 MARRA ET AL.: "THE WASHU-HHMI MOUSE EST PROJECT" XP002084569 -----	1-15

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

International Application No

PCT/EP 98/03584

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member(s)	Publication date
WO 9717937 A	22-05-1997	AU 1867297 A EP 0862644 A	05-06-1997 09-09-1998
US 5283173 A	01-02-1994	US 5468614 A US 5667973 A	21-11-1995 16-09-1997

